மூலக்கூறு மரபியல்

(MOLECULAR GENETICS)

முனைவர் கி. விஜயராமன்



தமிழ்நாடு மாநில உயர்கல்வி மன்றம்

காமராசர் சாலை, சென்னை - 600 005.

மூலக்கூறு மரபியல்
(MOLECULAR GENETICS)

முனைவர் கி.விஜயராமன்



தமிழ்நாடு மாநில உயர்கல்வி மன்றம்
காமராசர் சாலை, சென்னை - 600 005.

முதற் பதிப்பு : 2011

மதிப்புரிமை : தமிழ்நாடு மாநில உயர்கல்வி மன்றம்
சென்னை - 600 005.

நூலின் பெயர் : மூலக்கூறு மரபியல்

நூலாசிரியர் : முனைவர் கி. விஜயராமன்
முதல்வர்
கே.எஸ்.ஜி.கலை மற்றும் அறிவியல் கல்லூரி
வரதராஜபுரம்,
கோயம்புத்தூர் - 641 015.

மறு ஆய்வு செய்தவர் : முனைவர் எல்.எஸ். அரங்கநாதன்
பேராசிரியர் (ஓய்வு)
விலங்கியல் துறை,
அண்ணாமலைப் பல்கலைக்கழகம்
அண்ணாமலை நகர் - 608 002.

தமிழ் திருத்தம் செய்தவர் : முனைவர் இரா. அனுராதா
உதவிப் பேராசிரியர்
தமிழ்த்துறை
இராணி மேரிக் கல்லூரி
சென்னை - 600 004.

விலை : 89.00

அச்சிட்டோர் : மீரா ஆப்செட் பிரிண்டர்ஸ்
எண்.104, வி.ஆர். பிள்ளை தெரு,
திருவல்லிக்கேணி, சென்னை - 5.
அலைபேசி : 94442 43031

1. ஜோகன் கிரிகர் மெண்டல் : மரபியலுக்கு வித்திட்டவர் (உண்மையிலேயே பட்டாணி விதைகளை வித்திட்டு!)

2. தியோடர் போவரி : குரோமோசோம்தான் பாரம்பர்ய அலகு என நிரூபித்தவர்.

3. வெங்கடராம் ராமகிருஷ்ணன் : ரிபோசோமின் அணுவின் மூலக்கூறு அமைப்பு ஆய்வு (2009 நோ.ப.).

4. ஆர்தர் கார்ன்பர்க் : DNA உருவாக்கம் குறித்த ஆய்வு (1959 நோ.ப.)

5. வில்கெம் ஜோகன்ஸன் : ஜீன் என்ற பதத்தை முதலில் பயன்படுத்தியவர்.

6. டெமின் : RNAவிலிருந்து தலைகீழாய் செய்திகள் DNAவுக்கு செல்வதைக் கண்டுபிடித்தவர் (1975 நோ.ப.).

7. மார்ஷல் வாரன் நிரன்பர்க் : மரபியல் குறியீடு குறித்த ஆய்வு (1968 நோ.ப.).

8. ஃப்ராங்காய்ஸ் ஜேகப், ஜேகுவஸ் மோனாட் : ஆபரான் மாதிரி (1965 நோ.ப.).

9. வெர்னர் ஆர்பர், டேனியல் நாதன்ஸ் : ரெஷ்ட்ரிக்ஸன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் கண்டுபிடிப்பு (1978 நோ.ப.).

10. கேரி பேங்க்ஸ் முல்லிஸ் : PCR கண்டுபிடிப்பு (1993 நோ.ப.)

11. கிரிஸ்டியன் நுஸ்லின் வோல்ஹார்ட் : மரபியல் வடிகட்டல் (1995 நோ.ப.).

12. பிரடரிக் கிரி : பித் : மாற்றத்திற்கான சோதனை

13. மைக்கேல் ஸ்மித் : குறிஇலக்கு தீவீர் மாற்ற சோதனைகள் (1993 நோ.ப.).

14. எலிசபத் ப்ளாக்பர்ன் : முதுமை, DNA பழுது நீக்க ஆய்வுகள் (2009 நோ.ப.).

15. பார்பரா மெக்ளிண்டாக் : தாவும் ஜீன்கள், ட்ரான்ஸ்போசான்கள் (1983 நோ.ப.).

16. கிரேக் வெண்டர் : மனித ஜீனோம் திட்டம்.

17. ஃப்ரன்ச் ஆண்டர்ஸன் : ஜீன் மருத்துவம்.

18. டாம் ராட்ரிக் : ஜீனோமிக்ஸ்.

19. பிரான்சிஸ் கால்டன் : யூஜெனிக்ஸ்.

பொருளடக்கம்

CONTENTS

1. மூலக்கூறு மரபியல்: அடிப்படை மரபியல், மூலக்கூறு மரபியல் ஒரு முன்னோட்டம்

(Molecular Genetics : Briefing of Classical Genetics and Molecular Genetics)



உயிரினங்களில் ஒவ்வொரு இனமும் (species) தமக்கே உரிய தனித்துவ மரபியல் பண்புகளை கொண்டுள்ளன. இதன் மூலம் ஒரு இனம் மற்றொரு இனத்திலிருந்து வேறுபடுகிறது. ஒரு உயிரியை உருவாக்க ஒவ்வொரு இனமும் தனக்கே உரிய ஒரு சொந்த வளர்ச்சித் திட்டத்தைக் (developmental plan) கொண்டுள்ளது. இதை அதன் புளுபிரிண்ட் (blue print) எனக்கூறலாம். இந்த புளுபிரிண்ட் அதன் செல்களில் உள்ள DNA மூலக்கூறுகளில் குறியீடுகளாகப் (codes) புதைந்துள்ளது. அடுத்தடுத்த தலைமுறைகளுக்குக் கடத்தப்படும் பண்புகளை இந்த வளர்ச்சித் திட்டம் தீர்மானிக்கின்றது.

ஒரு இனத்திலுள்ள உயிரிகள் யாவும் ஒரே வளர்ச்சித் திட்டத்தைக் கொண்டுள்ளதால் ஒரே இனத்தைச் சார்ந்த உயிரிகள் யாவும் ஒன்றை ஒன்று ஒத்து ஒரேமாதிரியாகக் காணப்படுகிறது. உதாரணமாக மனிதனை ஒரு சிம்பன்சியிடமிருந்தோ அல்லது ஒரு கொரில்லாவிடமிருந்தோ எளிதாக வேறுபடுத்திவிடலாம். ஒரு மனிதன் நேராக நின்று, பெரிய மூளையையும், நீண்ட மூக்கு கொண்ட தட்டையான முகத்தையும், சிறு பற்களையும், தனித்த உதடுகளையும் கொண்டிருக்கிறான். இந்த பண்புகள் யாவும் மனித வளர்ச்சித் திட்டத்தின் ஒரு பகுதி. இவை யாவும் ஒருமித்துக் கடத்தப்பட்டு, ஹோமோ செபியன்ஸ் என்ற இனத்தை வேறுபடுத்திக்காட்டுகிறது.

ஆனாலும் மனிதர்கள் யாவரும் ஒரே மாதிரி இருப்பதில்லை. எளிதாகக் கண்டறியக்கூடிய பண்புகள் மனிதனுக்கு மனிதன் வேறுபடுகிறது. ஆண்களுக்கும் பெண்களுக்கும் இடையே எளிதாக வேறுபடுத்திக் கண்டறியக்கூடிய பண்புகள் தவிர, தலைமுடிவண்ணம், கண்வண்ணம், தோல்வண்ணம், உயரம், எடை போன்ற பல பண்புகள் வேறுபட்டிருப்பதை அறியலாம். பால் (sex) போன்ற சில மனிதப்பண்புகள் உயிரியல் ரீதியாகக் கடத்தப்படுகின்றன. சில பண்புகள் கலாச்சாரப்படி (cultural) கடத்தப்படுகின்றன. உதாரணமாக கண்வண்ணம் உயிரியல் அடிப்படையில் கடத்தப்படுகிறது. ஆனால் குழந்தைப்பருவத்திலிருந்தே கற்றமொழி, கலாச்சார பாரம்பரியத்தால் நமக்குக் கிடைக்கிறது. பல பண்புகள் உயிரியல் பாரம்பரியத்தாலும் சுற்றுச்சூழல் காரணிகளாலும் தாக்கம் (influence) கொள்ளப்படுகின்றன.

உதாரணமாக, நம் எடை பாரம்பரியத்தாலும், சுற்றுச்சூழல் காரணிகளான நாம் சாப்பிடும் உணவின் அளவு, அதன் செரிவூட்டும் தன்மை, நாம் மேற்கொள்ளும் உடற்பயிற்சி போன்றவைகளாலும் தீர்மானிக்கப்படுகின்றன. மரபியல் (Genetics) என்பது உயிரியல் ரீதியாகக் கடத்தப்படும் பண்புகளைப் பற்றிப்படிப்பது ஆகும். இதில் சுற்றுச்சூழலின் தாக்கத்தால் பாதிக்கப்பட்ட பண்புகளும் அடங்கும்.

மேற்கூறிய விவாதங்களிலிருந்து இரு கருத்துக்களை அறியலாம்.

1. பண்புகள் ஒரு தலைமுறையிலிருந்து வேறு தலைமுறைகட்கு கடத்தப்படுகின்றன. இதற்கு பாரம்பரியம் (heredity) என்று பெயர்.

2. இவ்வாறு பண்புகள் கடத்தப்பட்டாலும் அடுத்தடுத்த தலைமுறைகளில் உள்ள உயிரிகள் ஒரே மாதிரியாக இருப்பதில்லை.

இதற்கு **வேறுபாடுகள்** (variations) என்று பெயர். ஆகவே மரபியல் என்பது பாரம்பரியத்தையும் வேறுபாடுகளையும் பற்றிப் படிப்பதேயாகும்.

பாரம்பரியம் என்பது அனைத்து உயிரினங்களும் தம்மைப்போலே உள்ள அடுத்த தலைமுறைகளை உருவாக்குவதாகும். ஆகவே மரபியல் எனும் பாரம்பரிய அறிவியலில், பாரம்பரியத்திற்குக் காரணமான பொருட்களின் இயற்பியல் மற்றும் வேதியியல் பண்புகளை அறிந்து, மேலும் இப்பொருட்கள் அடுத்த தலைமுறைகட்கு எவ்வாறு கடத்தப்படுகின்றன என்பதையும் அறிந்து, அந்த பொருட்களில் புதைந்துள்ள தகவல்கள் ஒரு உயிரியின் வளர்ச்சியில் (development) எவ்வாறு வெளிப்படுத்தப்படுகின்றன என்பதையும் அறிகின்றோம்.

மரபியல் - அடிப்படைக் கோட்பாடு : இனப்பெருக்கத்தின் மூலம் பெற்றோர்களிடமிருந்து அடுத்த தலைமுறைகட்கு பாரம்பரிய அலகுகள் மூலம் பண்புகள் கடத்தப்படுகின்றன. இந்த பாரம்பரிய அலகுகளுக்கு **ஜீன்கள்** (genes) என்று பெயர். ஜீன்கள் இருப்பதையும், ஒரு தலைமுறையிலிருந்து மற்றொன்றுக்கு அவை கடத்தப்படுவதையும் முதலில் தெளிவாக விவரித்தவர் **'கிரிகர் மெண்டல்'**. அவர் பாரம்பரிய அலகுகளை **'காரணிகள்'** (factors) என்று அழைத்தார். பட்டாணிச்செடிகளில் உயரம், விதைகளின் வண்ணம் ஆகியவை கடத்தப்பட்ட முறைகளை ஆராய்ந்து அவை கடத்தப்படும் விதத்தை சில 'விதிகள்' மூலம் விவரித்தார்.

ஆரம்பகாலத்தில், இனப்பெருக்கத்தின் விளைவாக உருவான தலைமுறைகளைக் (progeny) கொண்டே மரபியல் என்ற அறிவியல் ஆராயப்பட வேண்டும் என்ற நிலை இருந்தது. இனங்களுக்கு

இடையேயான மரபியல் வேறுபாடுகளைக் கண்டறிவது மிகக் கடினம், காரணம் வெவ்வேறு இன உயிரிகள் இனங்களுக்கு இடையேயான கலவியில் (mating) ஈடுபடுவதில்லை அல்லது அவை கலவியில் ஈடுபட்டு உருவாகும் கலப்பின உயிரிகள் இறந்துவிடும் அல்லது மலடாகிவிடும். கலவியில் ஈடுபட்டு அதனால் உருவாகும் தலைமுறைகளைக் கொண்டு மரபியல் அறியும் முறைக்கு **அடிப்படை மரபியல்** (classical genetics) அல்லது **புறத்தோற்ற மரபியல்** (morphological genetics) என்று பெயர். பண்புகளுக்கான DNA தகவல்களை (ஜீனை) பாரம்பரிய முறைகள் மூலம் கண்டறியும் முறையே **அடிப்படை மரபியலாகும்.**

இம்மாதிரியான ஆய்வுகளை 19ம் நூற்றாண்டில் **மெண்டல்** பட்டாணிச்செடிகளில் மேற்கொண்டார். ஒரு சிவப்பு வண்ணம் மற்றும் சுருங்கிய வடிவமைப்பு விதைகள் கொண்ட பட்டாணிச்செடியை, வெண்மை வண்ணம் மற்றும் உருண்டை வடிவமைப்பு விதைகள் கொண்ட பட்டாணிச்செடியுடன் கலப்பு செய்தபோது, கிடைத்த தாவரங்கள் யாவும் இளஞ்சிவப்பு வண்ணமும் சுருங்கிய விதைகளையும் கொண்டிருந்தது. இதிலிருந்து சுருங்கிய வடிவம் ஓங்குதன்மை (dominant) கொண்டது என அறியலாம். ஆனால் சிவப்பு வண்ணம் முழுவதுமாக ஓங்கியிராததால் அதன் வண்ணம் வெளிறி, இளஞ்சிவப்பு (pink) வண்ணமாக மாறிவிட்டது. பின்பு மெண்டல் இளஞ்சிவப்பு வண்ணமும் சுருங்கிய வடிவமைப்பு விதைகள் கொண்ட பட்டாணிச்செடிகளை தற்கலப்பு செய்தபோது சிவப்பு, இளஞ்சிவப்பு மற்றும் வெண்மையான வண்ணங்கள் உண்டாகின. அதே சமயம் ஒவ்வொரு வண்ண விதைகளில் சில சுருங்கியும், சில உருண்டையாகவும் காணப்பட்டன. விதைகளின் வடிவம் ஒரு குறிப்பிட்ட வண்ணத்துடன் சேர்த்து கடத்தப்படவில்லை என்பது இதிலிருந்து தெரிகிறது. ஆகவே வண்ணமும், வடிவமும் தனித்தனியானவை. அதாவது, இவ்விரண்டும் இரு வேறு ஜீன்களால் கடத்தப்படுகின்றன என்பது புலனாகிறது. இம்மாதிரியாக ஜீன்களைப்பற்றி நடந்த ஆய்வுகள்தான் அடிப்படை மரபியலில் அடங்கும். மெண்டல் இம்மாதிரியான பல ஆய்வுகளை பட்டாணிச்செடியில் மேற்கொண்டார். ஆனால் மரபியல் அறிவு வளர்ந்ததன் மூலம் இனங்களுக்கு இடையே உள்ள வேறுபாடுகள் DNA ஆய்வு மற்றும் ஒப்பீடு மூலம் கண்டறியப்படுகிறது. இம்முறை பொதுவாக **மூலக்கூறு மரபியல்** (molecular genetics) அல்லது நவீன மரபியல் (modern genetics) எனப்படுகிறது.

மூலக்கூறு மரபியல், வரையறை: ஒரு தலைமுறையிலிருந்து மற்றொரு தலைமுறைக்கு தகவல்களைக் கடத்தும் காரணிகளைப்பற்றி அறிய உதவும் அறிவியலே மூலக்கூறு மரபியலாகும். இதை DNA, RNA

மற்றும் புரத மூலக்கூறுகளுக்கு இடையே மரபியல் தகவல்கள் பரிமாற்றம் மற்றும் கட்டுப்படுத்தும் தன்மைகளைப்பற்றி அறிய உதவும் அறிவியல் என்றும் வரையறுக்கலாம். இருப்பினும், அடிப்படையில் அடிப்படை மரபியலுக்கும், மூலக்கூறு மரபியலுக்கும் வேறுபாடுகள் இல்லை. மரபுப்பொருட்களின் பணிகளைக் கண்டறிய உதவும் வெவ்வேறான, அதே சமயம் ஒன்றை மற்றொன்று பூர்த்தி செய்யும் (complementary) வழிகள்தான் அடிப்படை மரபியலும் மூலக்கூறு மரபியலும். மரபுப்பொருட்களின் தன்மையை கண்டறிய இவ்விரு மரபியல் முறைகளும் பயன்படுகின்றன.

'மூலக்கூறு மரபியல்' என்ற மரபியலின் அடிப்படைக்கான வித்து 1869, அதாவது, மெண்டலின் கண்டுபிடிப்பிற்கு 3 ஆண்டுகள் கழித்து இடப்பட்டது. ஃப்ரெட்ரிக் மீஸர் (Frederick Meischer), 1869ல் வெள்ளையணுக்களில் அபரிமிதமாக காணப்பட்ட வலுவில்லாத ஒரு புதுவிதமான அமிலத்தைக் கண்டுபிடித்தார். அதுதான் இப்போது **DNA** என அழைக்கப்படும் டி ஆக்ஸிரிபோ நியூக்ளிக் அமிலம் (De-oxyribo Nucleic Acid) என்பதாகும்.

2. குரோமோசோம்களின் மூலக்கூறு அமைப்பு: ஜீன்களின் அமைவிடம், புரோகேரியோட்,யூகேரியோட் குரோமோசோம்களின் மூலக்கூறு அமைப்பு

(Molecular Structure of Chromosomes: Sites of genes, Molecular Structure of Prokaryotic and Eukaryotic Chromosomes)



ஒரு செல்லில் உள்ள மொத்த மரபுப்பொருட்களை குறிப்பது **ஜீனோம் (genome)** என்ற சொல். ஒரு செல்லில் உள்ள DNAவின் அளவு, ஒவ்வொரு உயிரினத்திற்கும் உள்ள தனித்த பண்பாகும். இது, அந்த குறிப்பிட்ட இனத்தின் எல்லா உயிரிகளிலும் உள்ள செல்களில் ஒரே மாதிரியாக இருக்கும். அதே சமயம் DNAவின் அளவு இனத்திற்கு இனம் வேறுபடும்.

அனைத்து ஜீனோம்,அல்லது ஜீனோமின் ஒரு பகுதியை தன்னகத்தே கொண்ட ஒரு அமைப்பு அலகு, **குரோமோசோம் (chromosome)** எனப்படும். எ.கோலி பாக்டீரியா போன்ற புரோகேரியோட்டுகளில் உள்ள சிறிய ஜீனோம் ஒரே ஒரு குரோமோசோமில் ஒரே ஒரு DNA மூலக்கூறாகக் காணப்படுகிறது. இது நியூக்ளியஸ் படலத்தால் சூழப்படாததால் **நியூக்ளியாய்ட் (nucleoid)** என அழைக்கப்படுகிறது. இது **2.5×10^9** என்ற அளவையும், **4.6×10^6** பேஸ் இணைகளையும் (base pairs) கொண்டிருக்கும்.

அட்டவணை 2.1.

ஜீனோம்	ஜீனோம் அளவு (கிலோ பேஸ்கள்)	ஹாப்ளாய்ட் குரோமோசோம் எண்ணிக்கை	DNA வடிவம்
வைரஸ் SV 40	5	1	வட்டம்
பாக்டீரியா - *எ.கோலி*	4,600	1	வட்டம
ஈஸ்ட்-*சக்காரோமைசிஸ் செரிவிசியே*	13,000	16	நீண்டது
மனிதன்-*ஹோமோசெபியன்ஸ்*	3,000,000	23	நீண்டது
சாலமண்டர்-*ஆம்பிஸ்டோமா*	90,000,000	14	நீண்டது

DNA மூலக்கூறுகள் பொதுவாக கிலோ பேஸ் இணைகளாகக் குறிப்பிடப்படும். (1KB = 1000 பேஸ் இணைகள்). யூகேரியோட் செல்களில் உள்ள பெரிய ஜீனோம்கள் நீண்ட DNA மூலக்கூறு இழைகளாக ஹிஸ்டோன் வகை புரதங்களுடன் இணைந்து, குரோமோசோம்களில் காணப்படுகின்றன. இந்த குரோமோசோம்கள் ஒரு படலத்தால் சூழப்பட்டு நியூக்ளியஸிற்குள் காணப்படுகிறது. சில உயிரிகளின் ஜீனோம் அளவு, குரோமோசோம் எண்ணிக்கை, DNA வின் வடிவம், அட்டவணை 2.1.ல் தரப்பட்டுள்ளது.

ஒரே அளவு வளர்சிதை மாற்றம், வளர்ச்சி மற்றும் இயங்குமுறைச் சிக்கல்கள் கொண்ட பல்வேறு யூகேரியோட் இனங்களுக்கு இடையே ஜீனோம் அளவு பெரிதளவு வேறுபாடுடன் காணப்படுகிறது. இவ்வாறு இடைத்தொடர்பே இல்லாமல் இருப்பதற்கு C மதிப்பு புதிர் (C- value paradox) என்று பெயர். உதாரணமாக சாலமண்டரில் ஜீனோம் அளவு 90 gb, அதே சமயம் மனிதனில் ஜீனோம் அளவு 30 gb . இதனால்தான் இதை புதிர் என்கிறோம்.

C- மதிப்பு புதிர் (C-Value Paradox)

ஒவ்வொரு செல்லின் நியூக்ளியஸிலும் மரபுப்பொருளான DNA காணப்படுகிறது. பல்வேறு சிற்றினங்களின் ஜீனோம்களை (ஒரு உயிரியில் காணப்படும் ஒட்டுமொத்த மரபுப்பொருள்) ஒப்பிட்டுப் பார்ப்பதற்கு அவைகளின் ஜீனோமின் அளவு தேவைப்படுகிறது. ஒவ்வொரு சிற்றினத்தின் மொத்த DNAயை அளவிடுவதற்கு ஒரு பொது அளவீட்டு மதிப்பு தேவை. செல்களிலுள்ள குரோமோசோம்களின் எண்ணிக்கை சிற்றினத்துக்கு சிற்றினம் வேறுபடும். ஒரே சிற்றினத்துக்குள்ளேயே செல்களின் வேறுபட்ட நிலையில் இது மாறுபடுகிறது. ஆகவே குரோமோசோம்களின் எண்ணிக்கையைக் கொண்டு DNAவின் அளவை ஒப்பிட்டுப் பார்க்க முடியாது.

ஹியூசன் ஸ்விப்ட் (Swift) என்பவர் ஒவ்வொரு சிற்றினமும் நிலையான மற்றும் அதற்கென தனித்துவம் வாய்ந்த செல் DNA திரள் கொண்டது என்று கூறினார். ஒரு உயிரியின் இரட்டித்தல் நடைபெறாத ஹாப்லாய்டு நியூக்ளியஸ் ஜீனோமில் காணப்படும் DNA வின் அளவுக்கு C-மதிப்பீடு என்று பெயர்.

பொதுவாக C-மதிப்பீட்டின் அலகு பிக்கோகிராம்ஸ் (Pg) அல்லது மில்லியன் காரமூல இணைகள் (Mb) ஆகும். ஒரு பிக்கோகிராம் 10^9 காரமூலங்கள் கொண்டது. 'C' ஒவ்வொரு சிற்றினத்திலும் இந்த எண்ணிக்கையின் நிலையான மாறாத ஒரே சீரான தன்மையை குறிப்பிடுவதற்காக உபயோகிக்கப்படுகிறது C-மதிப்பு புதிர்.

அட்டவணை 2.2.

உயிரி	மதிப்பீடு செய்யப்பட்ட அளவு	மதிப்பீடு செய்யப்பட்ட ஜீன் எண்ணிக்கை	சராசரி ஜீன் அடர்த்தி	குரோமோசோம் எண்ணிக்கை
ஹோமோ செப்பியன்ஸ் (மனிதன்)	2,900 மில்லியன் காரமூலங்கள்	30,000	1,00,000 கார மூலங்களுக்கு ஒரு ஜீன்	46
ராட்டஸ் நார்விஜிகஸ் (எலி)	2,750 மில்லியன் காரமூலங்கள்	30,000	1,00,000 கார மூலங்களுக்கு ஒரு ஜீன்	42
மஸ் மஸ்குலஸ் (சுண்டெலி)	2,500 மில்லியன் காரமூலங்கள்	30,000	1,00,000 கார மூலங்களுக்கு ஒரு ஜீன்	40
டுரோசோபிலா மெலனோகாஸ்டர் (பழ ஈ)	180மில்லியன் காரமூலங்கள்	13,600	9,000 கார மூலங்களுக்கு ஒரு ஜீன்	8
அராபிடாப்சிஸ் தாலியனா (தாவரம்)	125மில்லியன் காரமூலங்கள்	25,500	4,000 கார மூலங்களுக்கு ஒரு ஜீன்	5
சீனோராப்டிடிஸ் எலிகன்ஸ் (உருளைப்புழு)	97மில்லியன் காரமூலங்கள்	19,100	5,000 கார மூலங்களுக்கு ஒரு ஜீன்	6
சக்காரோமைசிஸ் செரிவிசியே (பூஞ்சை)	12மில்லியன் காரமூலங்கள்	6300	2,000 கார மூலங்களுக்கு ஒரு ஜீன்	16
எஸ்செரிசியா கோலி (பாக்டீரியா)	4.7மில்லியன் காரமூலங்கள்	3200	1400 கார மூலங்களுக்கு ஒரு ஜீன்	1
ஹேச். இன்புளுயன்சே (பாக்டீரியா)	1.8மில்லியன் காரமூலங்கள	1700	1000 கார மூலங்களுக்கு ஒரு ஜீன	1

பல செல் உயிரிகளின் C-மதிப்புக்கும், உறுப்புகளின் தொகுப்பளவிற்கும் தொடர்பு இல்லை. இதற்குத்தான் 1971ல் தாமஸ் என்பவர் C-மதிப்பு புதிர் என்று பெயரிட்டார்.

யூகேரியோட் சிற்றினங்களின் C-மதிப்புகள் ஏறத்தாழ சக்காரோமைசிஸ் பாம்பி ஈஸ்ட்டின் $1.2x10^7$ காரமூல இணை அளவிலிருந்து அமீபா குபியாவின் $6.7x10^7$ காரமூல இணை அளவுவரை வேறுபட்டு காணப்படுகின்றன. கரப்பான்பூச்சியின் C-மதிப்பு, மனிதனின் C-மதிப்பைக் காட்டிலும் கிட்டத்தட்ட பத்து மடங்கு அதிகமாக உள்ளது. குறைந்த உறுப்பமைப்பு கொண்ட கரப்பான் பூச்சியன் C-மதிப்பு மனிதனின் C-மதிப்பை விட மிகவும் குறைவாக இருக்கும் என்று எண்ணுவது இயல்பு. ஆனால் உண்மை அதற்கு மாறாக உள்ளது.

தாவர மண்டலத்திலும் இதுபோல காணப்படுகிறது. அராபிடாப்சிஸ் தாலியானாவை விட பெரணிச் செடி மிகவும் எளிய அமைப்புடையது. ஆனால் பெரணிச் செடியின் C-மதிப்பு அராபிடாப்சிஸ் தாலியானாவை விட 3000 மடங்கு அதிகமாக உள்ளது. பெரணியின் C-மதிப்பு நுரையீரல் மீனின் C-மதிப்புக்குச் சமமாக உள்ளது.

மனித ஜீனோம் திட்டம் முடிந்த பின் மனிதனின் C-மதிப்பு 3.5 pg ($2.9x10^9$) காரமூல இணைகள் என நமக்குத் தெரிய வந்துள்ளது. இதிலிருந்து அதிக உறுப்பமைப்பு கொண்ட உயிரிகளின் ஜீனோமின் அளவு அதிகமாக இருக்கும் என்று நாம் எண்ணுவது தவறு என்று தெரியவருகிறது. உதாரணமாக அமீபாவில் மனிதனைவிட அதிக அளவு DNA காணப்படுகிறது.

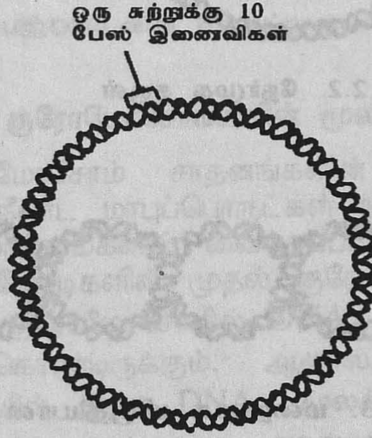
C-மதிப்பு பாரடாக்சின்படி ஒரு சிற்றினத்தில் காணப்படும் ஜீன்களின் எண்ணிக்கைக்கும் அவைகளின் ஜீனோமின் அளவிற்கும் தொடர்பு இல்லை. அட்டவணை 2.2.ன் மூலம் ஜீனோமின் அளவு பெரியதாக இருந்தால் ஜீன்களின் எண்ணிக்கையும் அதிகமாக இருக்கும் என நினைப்பது சரியல்ல என்று தெரிய வருகிறது. ஊதாரணமாக, அராபிடாப்சிஸ் தாலியாவின் ஜீனோமின் அளவு சிறிய எண்ணிக்கையில் ஜீன்களைக் கொண்டுள்ளது.

பாக்டீரியா குரோமோசோமின் மூலக்கூறு அமைப்பு

எ.கோலி பாக்டீரியாவின் ஒரே ஒரு குரோமோசோம் நன்கு சுருங்கி மடிந்து காணப்படுகிறது. இதற்கு நியூக்ளியாய்டு (nucleoid) என்று பெயர். யூகேரியோட்களின் குரோமோசோம்களை ஒப்பிடும்போது இவை உண்மையான குரோமோசோம்களாக இல்லாததால் இதை குரோமோசோம் என அழைப்பதே தவறு. இருப்பினும், அந்த வார்த்தையே பயன்படுத்தப்படுகிறது. எ.கோலி பாக்டீரியாவின் நியூக்ளியாய்டில் உள்ள வட்டவடிவ DNA மூலக்கூறு 1500 μm நீளம்

கொண்டது. இது 2 µm நீளம், 1 µm அகலம் கொண்ட பாக்டீரியாவின் செல்லுக்குள் புதைத்து வைக்கப்பட்டுள்ளது. இதற்கு காரணம் DNA மூலக்கூறு மிகைப்படியான சுருள்களாக (Super coiled) சுருட்டப்பட்டு புதைத்து வைக்கப்படுவதுதான். மேலும், DNA மிகச்சிறிய அளவில் சுருங்கியிருக்கக் காரணம் சில புரதங்கள். HU என்ற புரதம் - DNA வைச் சூழவும், FIS மற்றும் IHF புரதம் DNAவை வளைக்கவும், HNS புரதம் நெருக்கமாக அமைக்கவும் உதவுகின்றன.

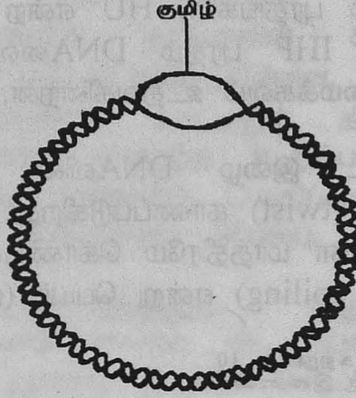
பாக்டீரியாவின் இரட்டை இழை DNAவின் பல பகுதிகள் ஒன்றன் மேல் ஒன்றாக திருகி (twist) காணப்படுகிறது. சிலஇடங்களில் DNA இம்மாதிரியான திருகுகளை மாத்திரமே கொண்டிருக்கும். இதற்கு **தளர்ந்த திருகமைப்பு** (relaxed coiling) என்று பெயர் (படம்2.1.).



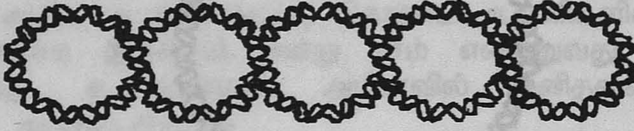
படம் 2.1. தளர்ந்த திருகமைப்பு

இந்த தளர்ந்த திருகமைப்பில் உள்ள ஒவ்வொரு பாலி (பல) நியூக்ளியோடைட் இழையும் வழக்கமாகக் காணப்படும் வலதுகைத் திருகுசுழல் (helix) அமைப்பைக் கொண்டிருக்கும். ஒரு திருகுசுழலில் 10 நியூக்ளியோடைட் இணைகள் (base pairs) காணப்படும். இதற்கு **நேர்முக சுருள்கள்** (positive coils) என்று பெயர். சில இடங்களில் திருகு சுருளில் உள்ள சுருள்கள் விலகி குமிழ்கள் (bulbous) காணப்படும். இவ்விடங்களில் உப்பு மூலங்கள் (bases) இணைந்திராது (படம் 2.2.). சில இடங்களில் மிகைதிருகு சுழல் (super coiling) காணப்படும். சுருள்கள் தம் மீதே சுருள்வதை **மிகைப்படியான சுருள்கள்** எனலாம். சில இடங்களில் திருகு சுருளில் உள்ள சுருள்கள் விலகி அதை ஒரு டெலிபோன் வயர் நன்கு சுருண்டிருப்பதுடன்

ஒப்பிடலாம். இதற்கு மறைமுக மிகையான சுருள்கள் (negative super coiling) என்றும் பெயர் (படம் 2.3.).

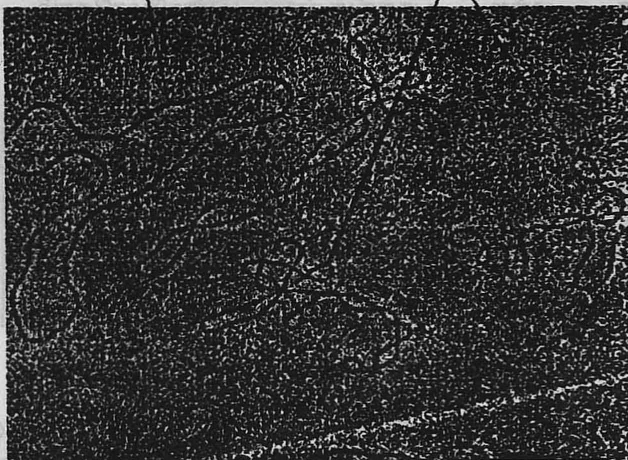


படம் 2.2. நேர்முக சுருள்



படம் 2.3. மறைமுக மிகுதியான சுருள்

படம் 2.4.ல் ஒரு தளர்ந்த திருகமைப்பும் மிகையான சுருளமைப்பும் காட்டப்பட்டுள்ளன. DNA மூலக்கூறுகளில் மிகைப்படியான சுருள்கள் ஏற்படுவதற்கு காரணம் டோப்போஐசோமரேஸ் (topoisomerase) என்ற நொதிதான்.



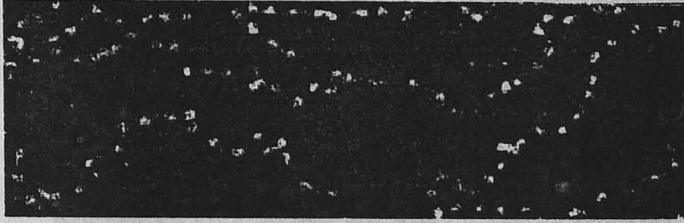
படம் 2.4. பேஜ்DNA வின் எலக்ட்ரான் மைக்ரோகிராப்

யூகேரியோட் குரோமோசோம்களின் மூலக்கூறு அமைப்பு

யூகேரியோட் குரோமோசோம் சாதனங்களின் அற்புதமான தன்மை என்னவெனில், மிக நீண்ட மரபுப்பொருட்கள் நன்கு அடுக்கப்பட்டு ஒரு சில சிறிய குரோமோசோம்களில் வைக்கப்பட்டுள்ளதுதான். மனிதனின் 23 குரோமோசோம் ஜோடிகளில் முதல் குரோமோசோம்தான் பெரியது. இந்த மிகப் பெரிய குரோமோசோமில் DNA மூலக்கூறு 82 மி.மீ (8.2 $x10^{-4}\mu m$) நீளம் கொண்டிருக்கும். ஆனால், மறைமுகப் பிரிவின் மெட்டாபேஸ் நிலையில் இந்த DNA மூலக்கூறு மிகச் சுருங்கி 10 μm நீளமும், 1 μmக்கு குறைவான அகலமும் கொண்டதாயிருக்கும். இதை எளிய உதாரணத்துடன் ஒப்பிட்டுக் கூறலாம். குரோமோசோமின் DNA மூலக்கூற்றை 1 மி.மீ. தடிமன் கொண்ட இடியாப்ப (அல்லது நூடுல்ஸ்) இழையாக கற்பனை செய்து கொண்டால் அதன் நீளம் 40 கி.மீ ஆகும். குரோமோசோம் சுருக்கத்தினால் இந்த இடியாப்ப இழை ஒன்றுடன் ஒன்று நெருங்கி, சுருள் மீது சுருளாகி மெட்டாபேஸ் நிலையில் 16 அடி நீளம், 2 அடி அகலம் கொண்டதாக சுருங்கி விடுகிறது. செல் பிரிதலுக்குப்பின் இந்த இடியாப்ப இழை மீண்டும் சுருள்கள் பிரிந்து நீளத் துவங்குகிறது.

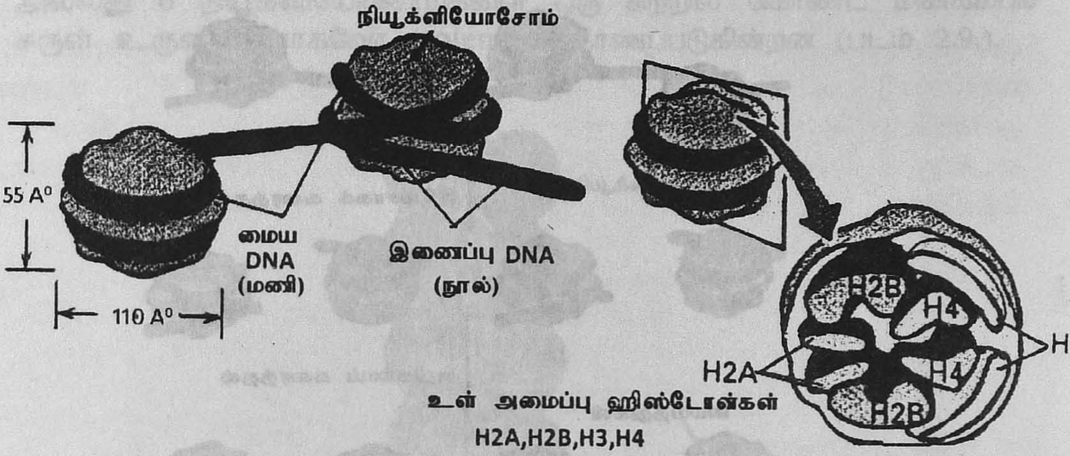
குரோமாட்டின் (Chromatin): அனைத்து யூகேரியோட் குரோமோசோம்களின் DNA பல்வேறு புரத மூலக்கூறுகளுடன் இணைந்து ஒரு நிலையான, ஒழுங்கமைப்பு கொண்ட கூட்டாக (aggregate) மாறியுள்ளன. இதற்கு **குரோமாடின்** என்று பெயர். குரோமாடினிலுள்ள சில புரதங்கள் குரோமோசோம் அமைப்பையும்,

செல் பிரிதலில் குரோமோசோம் அமைப்பில் ஏற்படும் மாற்றங்களையும் தீர்மானிக்கின்றன. மற்ற புரதங்கள் குரோமோசோம் பணிகளை ஒழுங்குபடுத்துவதில் பங்கேற்கின்றன.



படம் 2.5. **மணிமாலை போன்ற குரோமாடின் அமைப்பு**

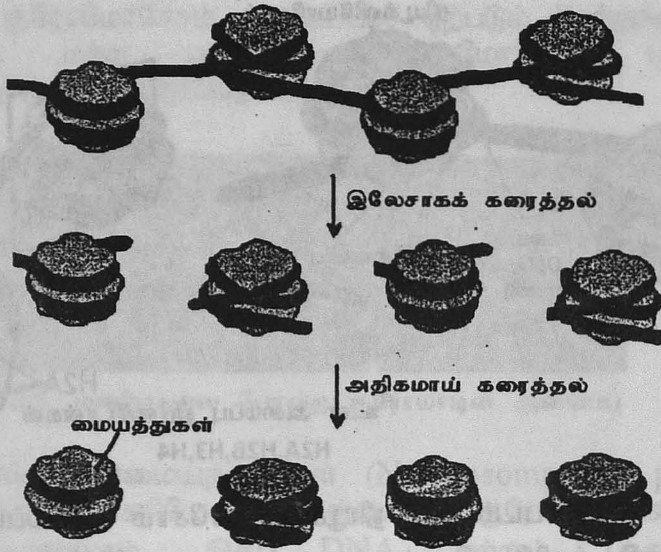
நியூக்ளியோஸோம் உள்மையத் துகள் (Nucleosome core particles): பிளவில் ஈடுபடாத யூகேரியோட் செல்களில் குரோமாடினின் எளிய அமைப்பைக் காணலாம். இது DNA மற்றும் புரதங்களைக் கொண்டுள்ளது. **ஹிஸ்டோன் புரதங்கள்** அதிக அளவில் காணப்படும். குரோமாடின் அமைப்பிற்கு ஹிஸ்டோன்கள்தான் காரணம். H1, H2A, H2B, H3, H4 என்ற 5 வகை ஹிஸ்டோன்கள் அனைத்து புரோகேரியோட் குரோமாடின்களிலும் DNA அளவிற்கு சமமாய் காணப்படுகிறது. இவை 20 – 30 சதவீதம் லைசின் மற்றும் ஆர்ஜினைன்கள் கொண்டு, மற்ற புரதங்களிலிருந்து வேறுபடுகின்றன. அவைகளின் நேர்முக மின்னேற்றம் ஹிஸ்டோன்களை DNAவுடன் இணைவதற்கு உதவியாய் உள்ளது. எலக்ட்ரான் நுண்ணோக்கியில் ஆராயும்போது குரோமாடின் பல மணிகளை நூலில் கோர்த்தது போல் (beaded) காணப்படுகிறது (படம் 2.5.). குரோமாடினின் மணி போன்ற அலகு **நியூக்ளியோசோம்கள்** (nucleosomes) எனப்படுகின்றன. படம் 2.6.ல் குரோமாடினிலுள்ள நியூக்ளியோசோம்களின் அமைப்பு காட்டப்பட்டுள்ளது.



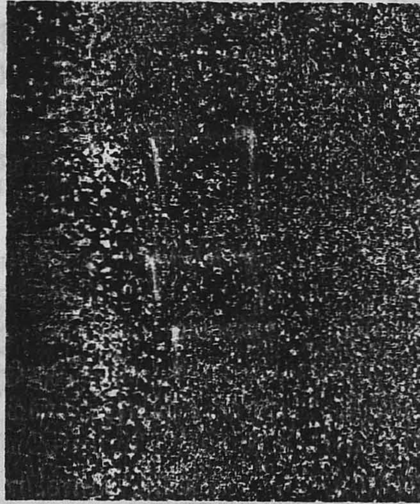
படம் 2.6. நியூக்ளியோசோம் அமைப்பு

ஒவ்வொரு நியூக்ளியோசோம் அலகும் ஒரு குறிப்பிட்ட கூட்டமைப்பைக் கொண்டுள்ளது. இது H2A, H2B, H3, H4 ஆகிய ஒவ்வொன்றின் மூலக்கூறுகளையும், 200 நியூக்ளியோடைட் இணைகளைக் கொண்ட ஒரு DNA துண்டையும், ஒரு H1 ஹிஸ்டோன் மூலக்கூறையும் கொண்டுள்ளது. H2A, H2B, H3, H4 ஆகிய ஒவ்வொன்றின் இரு சிறு அலகுகளும் DNAவின் ஒரு பகுதியும் 'மணியாகவும்'(bead) மீதி DNA மற்றும் H1 ஹிஸ்டோன் மணிகளை கோர்க்கும் நூலாகவும் உள்ளன. குரோமாடினை, சில DNAse நொதிகள் கொண்டு கரைத்தால், ஒரே மாதிரியான அளவு கொண்ட பல சிறு துகள்கள் கிடைக்கின்றன. இவை DNA மற்றும் ஹிஸ்டோன்களை மாத்திரமே கொண்டுள்ளன. இதிலுள்ள DNA, 200 நியூக்ளியோடைட் இணைகளைக் கொண்டிருக்கும். மணிகட்கு இடையே உள்ள பிணைப்பு DNA பகுதிகள் பிளக்கப்படுவதால் இந்த துகள்கள் உண்டாகின்றன (படம் 2.7.).

ஒவ்வொரு நியூக்ளியோசோமும், ஒரு மையத்துகளையும், அடுத்தடுத்த மையத்துகள்களையும் இணைக்கும் இணைப்பு DNA வையும் (linker DNA), ஒரு H1 மூலக்கூறையும் கொண்டிருக்கும். H1 மற்ற ஹிஸ்டோன் மூலக்கூறு கூட்டமைப்புகளுடனும், இணைப்பு DNAவுடனும் இணைந்திருக்கும். இணைப்பு DNA 20 முதல் 100 நியூக்ளியோடைட்களைக் கொண்டிருக்கும். அதற்கு ஏதாவது ஜீன் பணி உள்ளதா என்பது அறியப்படவில்லை.



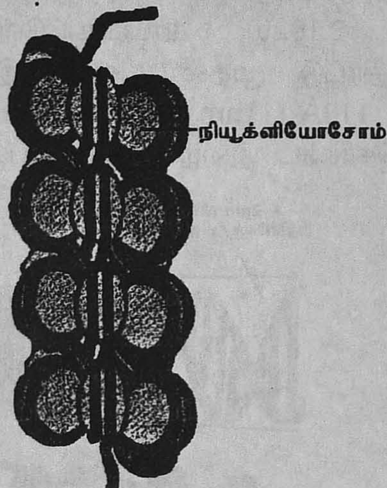
படம் 2.7. நியூக்ளியேஸ் நொதியால் கரைத்தல்



படம் 2.8. சுண்டெலி குரோமோசோமின் 30 nm குரோமாடின் இழை

செல்களில் நியூக்ளியோசோம் இழை சிறிய தடித்த இழையாக சுருங்கி 300 – 350A^0 தடிமனுடன் காணப்படுகிறது. இதற்கு **30nm** குரோமாடின் இழை என்று பெயர். சுண்டெலி குரோமோசோம்களில் உள்ள 30nm குரோமோசோம் இழை எலக்ட்ரான் நுண்ணோக்கி மூலம் பார்க்கப்படும்போது உள்ள தோற்றம் படம் 2.8.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது. இம்மாதிரியான அமைப்பு உருவாகும்போது நியூக்ளியோசோம் இழை ஒழுங்கற்ற இடதுகை மிகை திருகு சுருளாகவோ (super helix)

அல்லது 6 நியூக்ளியோசோம்களை ஒரு சுற்றில் கொண்ட மின்கம்பிச் சுருள் உருளைகளாகவோ (solenoid) காணப்படுகின்றன (படம் 2.9.).

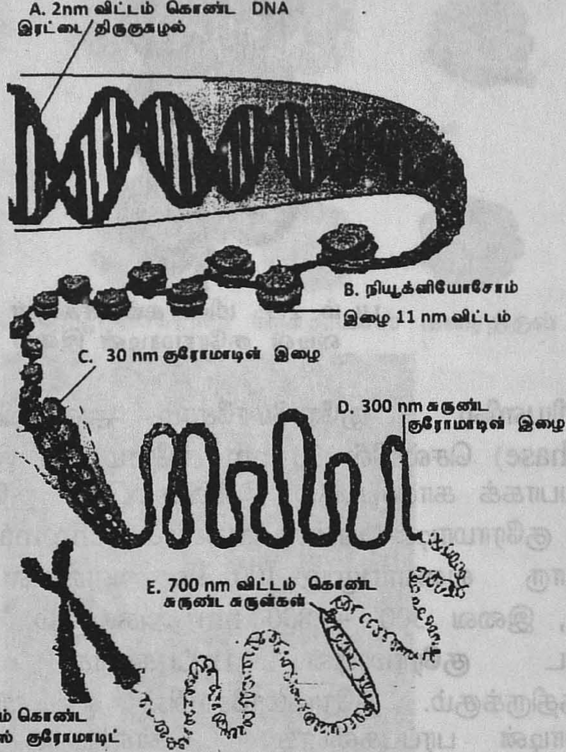


படம் 2.9. மின் கம்பிச்சுருள் வடிவ குரோமாடின் இழை

நியூக்ளியஸில் குரோமோசோம் அமைவிடம்: ஒரு இடைநிலை (interphase) செல்லில் 30 nm குரோமாடின் இழை ஒரு உயர் ஒடுங்கு அமைப்பாகக் காணப்படும். இவ்வமைப்பில் குரோமாடின் இழை சுருங்கி மடிந்த குரோமாடின் வளையங்களாக (chromatin loops) காணப்படும். ஒவ்வொரு வளையமும் 100 kb அளவுள்ள DNA கொண்டிருக்கும். மேலும், இவை 300 – 800 nm அகலமும், 1 mb அளவுள்ள DNA கொண்ட **குரோமாடின் பரப்புகளாக** (chromatin domains) அமைந்திருக்கும். குரோமோசோமின் ஒவ்வொரு கையும் 100 mb குரோமாடின் பரப்புகளைக் கொண்டிருக்கும். மேலும் ஒவ்வொரு குரோமோசோமும் இடைநிலை நியூக்ளியஸில் ஒரு குறிப்பிட்ட **குரோமோசோம் இடங்களை** (chromosome territory) கொண்டிருக்கும். குறைந்த ஜீன்கள் கொண்ட குரோமாடின் இடங்கள் நியூக்ளியஸின் விளிம்புகளிலும் அதிக ஜீன்கள் கொண்ட குரோமோசோம் இடங்கள் நியூக்ளியஸின் உட்பகுதியிலும் காணப்படும்.

'குரோமாடின் இடங்களுக்கு' இடையே உள்ள பகுதிகள் கால்வாய்கள் அல்லது வலைப்பின்னலைப்போல காணப்படும். அதாவது ஒரு ஸ்பாஞ்சில் காணப்படும் துளைகளைப்போல. இவைகட்கு **குரோமாடின் அறைகள்** (பிரிவுகள்) (chromatin compartments) என்று பெயர். இக்கால்வாய்கள் வழியேதான் DNA இரட்டித்தல், படிஎடுத்தல், RNA பதப்படுத்தல் போன்றவற்றிற்குத் தேவையான மூலக்கூறுகள் கடந்து செல்கின்றன.

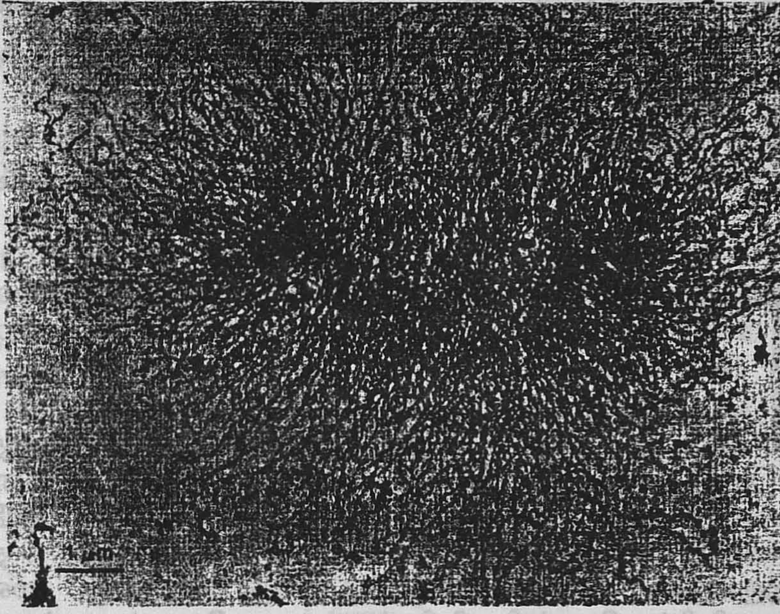
குரோமோசோம் சுருங்குதல் (Chromosome condensation): குரோமோசோம் அமைப்பிற்கான படி அமைப்பு நிலை (hierarchial nature) படம் 2.10.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது. DNA மற்றும் ஹிஸ்டோன்கள் திரட்டு முதல் நிலை. இதனால் DNA நீளம் 7 மடங்கு குறைந்து 110Å (11nm) அகலம் கொண்ட, மணிகள் கொண்ட நெகிழ்வுதன்மை கொண்ட இழையாகிறது (படம் 2.10.B).



படம் 2.10. குரோமோசோம் சுருங்குதலின் பல நிலைகள்

மேலும், தனித்த DNAவை ஒப்பிடும்போது DNA இழை 5 மடங்கு அகலம் குறைந்தும் காணப்படுகிறது (படம் 2.10.A). குரோமாடின் இழை சுருங்கி 30nm குரோமாடின் இழையாகக் காணப்படுகிறது (படம் 2.10 C). மறைமுகப்பிரிவின் மேலே விவரித்த இடைநிலை குரோமாடின் அமைப்பு மாறி 30nm குரோமாடின் இழை சுருங்கி மெடாபேஸ் குரோமோசோமின் குரோமாடிடாகிறது (படம்2.10.D-F).

தனித்த மெடாபேஸ் குரோமோசோம்களை எலக்ட்ரான் நுண்ணோக்கி மூலம் ஆராய்ந்தபோது, பகுதி பிரிந்த DNA ஒரு மையப்பகுதியான சாரக்கட்டிலிருந்து (scaffold) பல பக்கங்களிலும் வளையங்களாக நீண்டிருப்பது தெரிகிறது (படம் 2.11.).



படம். 2.11. ஹிஸ்டோன்கள் நீக்கப்பட்ட மெட்டாபேஸ் குரோமோசோம் எலக்ட்ரான் நுண்ணோக்கி படம்

DNA மற்றும் புரதம் பொதிந்து குரோமாடினாக சுருங்கியிருப்பதும், பின் அது மெடாபேஸ் குரோமோசோமாக மாறுவதற்கான மரபியல் முக்கியத்துவம் யாதெனில், நியூக்ளியஸ் பிரிவின்போது மரபுப்பொருள் நகர்வதற்கு உதவுவதற்குத்தான்.



3.நியூக்ளிக் அமிலங்களின் மூலக்கூறு அமைப்பு: DNAவின் வாட்சன்-கிரிக் மாதிரி, DNAவின் வடிவமைப்புகள், RNA வகைகள்

(Molecular Structure of Nucleic Acids: Watson-Crick model of DNA, forms of DNA, types of RNA)



DNAவைப் போன்ற முக்கியமான பொருள் எதுவும் இல்லை. உயிரின் முக்கிய மூலக்கூறான புரதங்களின் அமைப்புகளைத் தீர்மானிக்கும் பாரம்பரியத் தகவல்களை தனது அமைப்பில் கொண்டிருக்கும் மூலக்கூறு DNA. மேலும், DNA செல்கள் வளரவும், பிளவுபடவும் தேவையான அறிவுறுத்தல்களை தம்மில் குறியீடாகக் கொண்டிருக்கும். கருவுற்ற முட்டைகளை, உயர் தாவரங்கள் மற்றும் விலங்குகளின் கோடிக்கணக்கான விசேடவகைச் செல்களாக மாறுபாடடைவதற்கான செய்திகளையும், தம்முள்ளே கொண்டிருக்கும். நான்கு பில்லியன் வருடங்களுக்கு முன், முதல் உயிரி பூமியில் தோன்றியதிலிருந்து, பல கோடிக்கணக்கான உயிரி வகைகள் பூமியில் பரிணாமம் அடைந்து, இன்று மனிதன் தோன்றும்வரை நடந்த அற்புத மாற்றங்களுக்கெல்லாம் அடிப்படை DNAதான்.

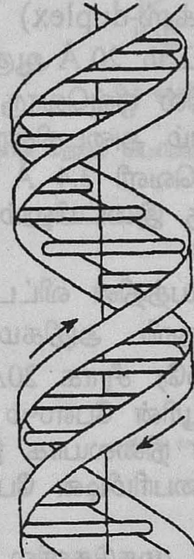
DNAவின் மூலக்கூறு அமைப்பு: ஜேம்ஸ் வாட்சன், பிரான்சிஸ் கிரிக் (James Watson, Francis Crick) (படம் 3.1.) ஆகியோர் 1953ல் 'நேச்சர்' (Nature) பத்திரிக்கையில் 'நியூக்ளிக் அமிலங்களின் மூலக்கூறு அமைப்பு: DNAவிற்கான ஒரு அமைப்பு' என்ற தலைப்பில் இருபக்க ஆய்வுக்கட்டுரை வெளியிட்டனர்.



படம் 3.1
வாட்சன்,க்ரிக்

மெண்டல் மற்றும் டார்வினின் ஆய்வுகட்கு இணையான இக்கண்டுபிடிப்பு, நவீன மூலக்கூறு மரபியலுக்கு அடிகோலியது. வாட்சன் மற்றும் கிரிக் தம் ஆய்வுக்கட்டுரையில் வெளியிட்டிருந்த DNAவிற்கான மாதிரிப் படம் 3.1. Aல் காட்டப்பட்டுள்ளது.

DNA அமைப்பு பற்றிய விரிவான விளக்கங்கள், மரபுப்பொருளை அடுத்த தலைமுறைக்கு கடத்துவது, DNA எவ்வாறு இரட்டிக்கிறது (replication) போன்றனவற்றை விரிவாக செல் அறிவியலில் (Cell Biology) படிப்பீர்கள். ஜீன் வெளிப்பாடு குறித்து அறிந்து கொள்ள ஏதுவாக, DNAவின் அடிப்படை அமைப்புகளை மாத்திரம் இப்போது பார்ப்போம்.



படம் 3.1.Aநேச்சரில் வாட்சன்- கிரிக் அளித்த DNA இரட்டை திருகு சுழலின் முதல் மாதிரி

DNA பல நியூக்ளியோடைட்களால் (nucleotides) ஆன நீண்ட பாலிமர் (polymer). DNAவில் நைட்ரஜன் பேஸ்கள் (உப்பு-மூலங்கள்), டி-ஆக்ஸிரைபோஸ் சர்க்கரை மற்றும் பாஸ்பாரிக் அமிலம் ஆகியவை உள்ளன. ஒரு நைட்ரஜன் பேஸ் டி-ஆக்ஸிரைபோஸ் மூலக்கூறுடன் இணைந்து ஒரு நியூக்ளியோஸைட் (nucleoside) உருவாகிறது. இந்த நியூக்ளியோஸைட் ஒரு பாஸ்பாரிக் அமில மூலக்கூறுடன் இணைந்து ஒரு நியூக்ளியோடைட் (nucleotide) உருவாகிறது (படம் 3.2.).

நைட்ரஜன் பேஸ் பியூரின்கள் (purines) மற்றும் பைரிமிடின்கள் (pyrimidines) என்ற கூட்டுப்பொருட்களை கொண்டுள்ளது. DNAவில்

உள்ள பியூரின்கள் அடினைன் (A) மற்றும் குவானைன் (G) ஆகும். பைரிமிடின்கள் சைட்டோசைன் (C) மற்றும் தைமின் (T) ஆகும்.

வாட்சன் - கிரிக் DNA இரட்டைச்சுருள் (படம் 3.3.)

வாட்சன் மற்றும் கிரிக் (Watson and Crick) DNAவின் X-கதிர் விளிம்பு விளைவு புகைப்படத்தை ஆராய்ந்து அதன் இரட்டைச்சுருள் முப்பரிமாண அமைப்பினை விளக்கினர். அவர்கள் கூற்றுப்படி DNA,

1. ஒரு ஒழுங்கான திருகுசுருள் (helix) அமைப்பைக்கொண்ட பாலிநியூக்ளியோடைட் சங்கிலியாகும்.
2. திருகுசுருள், இரு பாலி நியூக்ளியோடைட் சங்கிலிகள் கொண்ட இரட்டைச்சுருள் (டியூப்ளக்ஸ்-duplex) ஆக இருக்கின்றது.
3. DNA திருகுசுருளின் விட்டம் 20 Å ஆகும்.
4. திருகுசுருள் தன் நீளத்தில் ஒவ்வொரு 34Å நீள இடை வெளியிலும் ஒரு திருப்பம் அடைகின்றது. இதனால் இடை நியூக்ளியோடைட் இடைவெளி 3.4 Å ஆக இருக்கின்றது.
5. ஒவ்வொரு திருப்பத்திற்கு இடையிலும் 10.4 நியூக்ளியோடைட் இணைகள் இருக்கின்றன.
6. பியூரின் இரட்டை வளையத்தின் விட்டம், பைரிமிடின் ஒற்றை வளையத்தின் விட்டத்தைவிட அதிகமாக இருந்தாலும், DNA திருகுசுருளின் விட்டம் ஒரே சீராக 20Å யாக இருக்கின்றது. அதில் பைரிமிடின் பேஸும், பியூரின் பேஸும் மாறிமாறி அமைந்துள்ளன.
7. இரட்டை திருகுசுருள்கள் நிலையாக இருப்பதற்காக ஹைட்ரஜன் இணைப்புகள் பியூரின், பைரிமிடின் பேஸ்களுக்கிடையே காணப்படுகின்றது.
8. இத்திருகுசுருளின் வெளி முகடுகளில் பாஸ்பாரிக்அமிலமும், சர்க்கரை மூலக்கூறும் ஒன்றையடுத்து ஒன்றாக அமைந்துள்ளன. இவைகளே DNAயின் முதுகெலும்பு (back bone) எனக் கருதப்படுகின்றன.
9. ஒரு சுருளின் 3' முனையும் அடுத்த சுருளின் 5' முனையும் அருகருகே அமையுமாறு சங்கிலிகள் எதிரெதிர் திசையில் இணையாக அமைந்திருக்கின்றன. அதாவது, அவை எதிர் வேதித் துருவமைப்பில் அமைந்துள்ளது.
10. இரட்டைச் சுருள்களின் ஒரு சுருளின் பியூரின் பேஸும்,மற்றொரு சுருளின் பைரிமிடின் பேஸும் இணைக்கப்பட்டுள்ளன. எப்பொழுதும் தைமின் அடினைனோடும், சைட்டோசைன் குவானைனோடும் மட்டுமே இணையும். எனவே DNA வில் நான்கு வகை நைட்ரஜன் பேஸ் இணைகள் மட்டும் காணப்படுகின்றன. இவை A-T, T-A, G-G, G-C. இந்நான்கு வகைகளும், எவ்வரிசையிலும், எத்தனை முறையும் காணப்படலாம்.

பியூரின்

அடினைன் குவானைன்

பைரிமிடின்

சைடோசின் தைமின் யுராசில்

D-ரிபோஸ் சர்க்கரை D-டி-ஆக்ஸி ரிபோஸ் சர்க்கரை

படம் 3.2. பியூரின் மற்றும் பைரிமிடின்கள்

5' முனை 3' முனை

3' முனை 5' முனை

சிறிய பள்ளம்

பெரிய பள்ளம்

3.4 nm

0.34 nm

2.0 nm

படம் 3.3. வாட்சன் - கிரிக்கின் DNA இரட்டை திருகு சுழல்

DNA வின் பல வடிவமைப்புகள் (Forms of DNA) :

DNA மூலக்கூறுகள், A, B, C மற்றும் D ஆகிய நான்கு வடிவமைப்புக்களில் காணப்படுகின்றன. DNA வடிவமைப்புகளை வேறுபடுத்தி அறிய அவற்றின் சர்க்கரைச் சுருக்கங்கள் அல்லது

மடிப்புகள் (sugar puckering) முக்கிய பண்பாகப் பயன்படுத்தப்படுகின்றது.

A – வடிவமைப்பு (A- DNA): இது 3’ உட்புற சுருக்கம் (3’ – endo puckering) கொண்டிருக்கின்றது. சில DNA மூலக்கூறு நியூக்ளியோடைட் இணைகள் இடைவெளியில் முழுத் திருப்பம் அடைகின்றது. இது A – DNA எனப்படுகின்றது. இதன் சாய்வு (γ) 20.2^{o} ஆக இருக்கின்றது.

B – வடிவமைப்பு (B- DNA) : 3’ வெளிப்புறச் சுருக்கம் (3’-exo puckering) கொண்டிருக்கின்றன. B – வடிவமைப்பு DNA வாட்சன்-கிரிக் இரட்டைச் சுருள் DNA அமைப்பு B – வடிவமைப்பு எனப்படுகின்றது. ஏறக்குறைய எல்லா உயிரினங்களின் செல்களிலும் B – DNA காணப்படுகின்றது. B – வடிவமைப்பு கொண்ட DNA சராசரியாக 10.4 நியூக்ளியோடைட் இடைவெளியில் முழு திருப்பம் அடைகின்றது. இதில் ஒரு பேஸ் இணையின் சாய்வு (tilt-γ) 6.3^{o} ஆக இருக்கின்றது. குறைந்த அளவு உப்புகள் கொண்ட நீர்மமான, அடர்த்தி அற்ற நியூக்ளியோ பிளாசத்தில் DNA, B – வடிவமைப்பில் இருக்கின்றது.

C - வடிவமைப்பு (C-DNA): 3’ வெளிப்புறச் சுருக்கம் (3’-exo puckering) கொண்டிருக்கின்றன. நியூக்ளியோபிளாசத்தில் உப்பு அடர்த்தி அதிகரிக்கும்பொழுதும், நீரின் அளவு குறையும்பொழுதும் B- வடிவமைப்பு C- வடிவமைப்பாக மாறுகின்றது. C- வடிவமைப்பில், முழுத்திருப்பம் 9.5 நியூக்ளியோடைட் இடைவெளியில் அமைந்திருக் கின்றது. சாய்வு (γ) 7.8^{o} ஆக இருக்கின்றது.

D – வடிவமைப்பு DNA (D- DNA): 2’- உட்புற சுருக்கம் (2’ endo- puckering) கொண்டிருக்கின்றது. இவ்வடிவமைப்பில் திருகு சுருள் 8 நியூக்ளியோடைட் இடைவெளியில் திருப்பமடைகின்றது. இதன் சாய்வு (γ) 16.7^{o} ஆக இருக்கின்றது.

Z – வடிவமைப்பு DNA: இந்த DNA அமைப்பு கோணல்மாணலாக (Zig -Zag) இருக்கும். இது பல வழிகளில் B-DNAவை ஒத்துள்ளது. இதன் பணி யாதென தெரியாவிடினும் ஜீன் செயல்பாட்டை ஒழுங்குபடுத்துவதிலும், மரபியல் மறுஇணைவிலும் இது பங்கேற்கலாம் எனக் கருதப்படுகிறது.

சசிசேகரனின் RL மாதிரி: இந்திய அறிவியல் ஆராய்ச்சிக் கழகத்தைச் சார்ந்த சசிசேகரன் குழுவினர், வலது கை (R) மற்றும் இடதுகை (L) இரட்டை திருகுசுழல்கள் இருப்பதற்கு வாய்ப்புள்ளதாகக்

கருதி RL மாதிரியை வெளிப்படுத்தினர். இதில் ஒரு B-DNA அமைப்பு, 5 பேஸ் இணைப்புகள் கொண்ட, மாறி மாறி அமைந்த வலது கை மற்றும் இடதுகை துண்டுகளை கொண்டிருப்பதாகக் கூறினர். இவர்கள் கூற்று சரியாக இருப்பதற்கான சான்றுகள் உள்ளன.

ரிபோநியூக்ளிக் அமிலம் (RNA)

3', 5'– பாஸ்போடைஎஸ்டர் பாலங்களால் ஒன்றாக இணைக்கப்படும் ரிபோநியூக்ளியோடைடுகளால் ஆன பாலிமர் RNA. RNA அமைப்பில் DNAவுடன் சில ஒற்றுமைகளைக் கொண்டிருந்தாலும், பல வேறுபாடுகள் உள்ளன.

1. பெண்டோஸ்: RNAவின் சர்க்கரை ரிபோஸ்.
   பைரிமிடின்: RNAவில், DNAவில் உள்ள தைமினுக்குப் பதிலாக காணப்படும் பிரிமிடின் யுராசில் ஆகும்.
2. ஒற்றை இழை: பொதுவாய் RNA ஒற்றை இழை பாலிநியூக்ளியோடைட். இருப்பினும், சில இடங்களில் இந்த ஒற்றை இழை மடிந்து இரட்டை இழை அமைப்பைத் தரலாம்.
3. சார்கா.்.ப் விதி பின்பற்றப்படவில்லை: ஒற்றைஇழை அமைப்பின் காரணமாய் பியூரின் மற்றும் பைரிமிடின் பொருட்களுக்கு குறிப்பிட்ட சம்பந்தம் இல்லை. ஆகவே குவானைன் அளவு சைடோசின் அளவுக்கு நிகராக இல்லை.

அட்டவணை 3.1.

RNA வகை	பணிகள்
தூதுவர் RNA (mRNA)	புரதத்தை உற்பத்தி செய்ய ஜீன்களின் தகவல்களை ரிபோசோம்கட்கு எடுத்துச் செல்கிறது.
பதப்படுத்தப்படாத (hnRNA) நியூக்ளியார் RNA	யூகேரியோட்டுகளில் mRNA மற்றும் மற்ற RNAக்களுக்கு முன்னோடியாக செயல்படுகின்றன.
மாற்று RNA (tRNA)	புரத உற்பத்திக்காக அமினோ அமிலங்களை mRNAவுக்கு மாற்றுகிறது.
ரிபோசோம் RNA (rRNA)	ரிபோசோம்கட்கு அடிப்படை அமைப்பை அளித்து புரத உற்பத்திக்கு உதவுகிறது.
றிய நியூக்ளியார் RNA RNA)	mRNA பதப்படுத்தலில் பங்கேற்கிறது. இன்ட்ரான்களை வெட்டி எக்ஸான்களை இணைக்க உதவும்.

சிரிய சைட்டோப்பிளாச RNA (scRNA)	சைட்டோப்பிளாசத்தில் காணப்படும் இது புரதத்தை ஏற்றுமதி செய்தல் போன்ற பணிகளில் ஈடுபடுகிறது.
மாற்று – தூதுவர் RNA (tmRNA)	பெரும்பாலும் பாக்டீரியாவில் காணப்படும் இது புரதத்துடன் சிறு பெப்டைடுகளை இணைத்து சரியாக உருவாகாத புரதங்களை அழிக்க உதவுகிறது.
துவக்க RNA (iRNA)	DNAவின் தொடரும் இழை உற்பத்திக்கு ப்ரைமராகப் பயன்படும்.
சிறிய நியூக்ளியோலார் RNA (snoRNA)	நியூக்ளியோலசில் காணப்படும் இது tRNA பதப்படுத்தலில் பங்கேற்கிறது.
டீலோமிரேஸ் RNA	குரோமோசோமின் டீலோமியரில் காணப்படும் டீலோமிரேஸ் நொதியின் ஒரு பகுதி.
எதிர் உணர் RNA (antisense RNA)	mRNAவைப் பூர்த்தி செய்யும் இது mRNAவுடன் இணைந்து புரத உற்பத்தியைத் தடுக்கும். பாக்டீரியாவில் காணப்படும்.
சிறு குறுக்கீட்டு RNA (siRNA)	சில சமயம் மெடாசோவாக்களில் mRNAவை எக்ஸோநியூக்ளியேஸ் நொதியால் அழிக்க உதவும் RNA இது. இரட்டை இழை RNA வைரஸ்களுக்கு எதிரான தடைகாப்பு அமைப்பாக இது செயல்படுவதாகக் கருதப்படுகிறது.
நுண் RNA (miRNA)	மெடாசோவா mRNAவுடன் நியூக்ளியோடைட் வரிசைகளைப் பூர்த்தி செய்யும் மிகச்சிறு RNA இவை.
பிவி இடைச்செயல் RNA (piRNA) (Piwi-interacting RNA)	செல் செய்திகளை அழிக்க உதவும் RNA
ரிபோசைம்கள் (Ribozymes)	வேதியியல் வினைகளைத் தூண்டும் சில வகை RNA மூலக்கூறுகள் இவை.

RNA வகைகள்

மூன்று முக்கிய வகை RNAக்கள் உள்ளன். அவை:

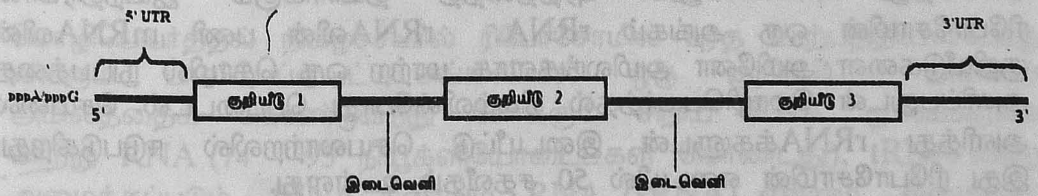
1. தூதுவர் RNA (mRNA) : 5-10 %
2. மாற்று RNA (tRNA) : 10-20%
3. ரிபோசோம்RNA (rRNA) : 50-80%

இவற்றைத்தவிர மேலும் பல RNAக்கள் செல்களில் உள்ளன. அனைத்து RNA வகைகள், பணிகள் அட்டவணை 3.1.ல் தரப்பட்டுள்ளது. RNAக்கள் DNAவிலிருந்து உருவாக்கப்பட்டு, பொதுவாய் புரத உற்பத்திக்குப் பயன்படுகின்றன.

தூதுவர் RNA (Messenger RNA - mRNA)

ஜீன்களிலிருந்து தகவல்களை ரிபோசோம்கட்கு எடுத்துச் செல்பவை தூதுவர் RNA. அங்கு அந்த செய்திகள் புரதங்களாக மொழி பெயர்க்கப்படுகின்றன.

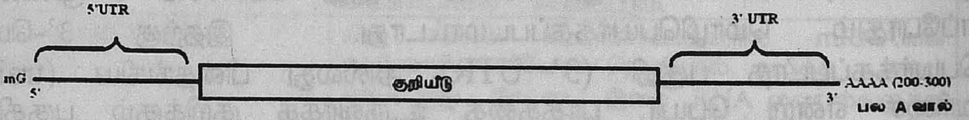
புரோகேரியோட் mRNA: செல்லின் மொத்த RNA வில் 5 சதவீதம் mRNA ஆகும். இதன் வாழ்நாள் ஒரு சில நிமிடங்களே. பெரும்பாலும் இவை பல சிஸ்ட்ரான்களைக் கொண்டது. அதாவது பல பாலிபெப்டைட் சங்கிலிகளை உருவாக்கும் தகவல்களைக் கொண்டிருக்கும். புரோகேரியோட் mRNAவின் அனைத்து பகுதிகளும் பாலிபெப்டைட் உருவாக்கத்தைக் குறிப்பதில் 5'முனை வழக்கமாக அடினைன் அல்லது குவானைன் டிரைபாஸ்பேட்டாகும். 5'முனை எப்போதும் மொழிபெயர்க்கப்படாத நீண்ட வரிசையைக் கொண்டது. அதற்கு 5'- மொழிபெயர்க்கப்படாத பகுதி (5' UTR) அல்லது லீடர் (தலைமை) வரிசை என்று பெயர். இது போலவே 3'-முனையும் எப்போதும் மொழிபெயர்க்கப்படமாட்டாது. இதற்கு 3'-மொழி பெயர்க்கப்படாத பகுதி (3' UTR) அல்லது பின்தங்கிய (trailer) வரிசை என்று பெயர். புரதத்தை உருவாக்க குறிக்கும் பகுதிக்கு **கோடான்** (codon) என்று பெயர். இந்த குறியீட்டுக் கோடான் துவக்க கோடானுடன் துவங்கி முடிவு கோடானில் முடியும். பொதுவாய் AUG என்ற முப்படை கோடான் துவக்க கோடனாகவும், UAA, UAG, UGA என்பவை முடிவு கோடனாவும் இருக்கும். கோடான்களுக்கு இடையே இடைவெளி (spacer) காணப்படும் (படம் 3.4.).



படம் 3.4. புரோகேரியோட் mRNAவின் ஒரு பகுதி

யூகேரியோட் mRNA : செல்லின் மொத்த RNAவில் 3 சதவீதம் இருக்கும். பெரும்பாலும் இவை சிலமணி நேரங்களிலிருந்து பல நாட்கள் சிதைவுறாமல் இருக்கும். DNA முதலில் hnRNA எனும் பதப்படுத்தப்படாத RNAவை உற்பத்தி செய்யும். அதிலுள்ள இன்ட்ரான் பகுதிகள் வெட்டி நீக்கப்பட்டு எக்ஸான்கள் இணைக்கப்பட்டு

mRNA உருவாகிறது. இவை ஒரே ஒரு சிஸ்ட்ரான் கொண்டது. அதாவது ஒரே ஒரு பாலிபெப்டைட் சங்கிலியை உற்பத்தி செய்யும் தகவல்களை மாத்திரமே கொண்டிருக்கும். இதிலும் லீடர்வரிசை (5' UTR) மற்றும் பின்தங்கிய வரிசை (3' UTR) காணப்படும். படிஎடுத்தல் துவங்கியதும் இந்த mRNAவின் 5'முனையில் ஒரு 5'தொப்பி சேர்க்கப்படும். அதாவது 7-மிதைல் குவானோசைன்கள் 5-5' ட்ரைபாஸ்பேட் இணைப்புகளால் இணைக்கப்பட்டு mRNAவின் முதல் நியூக்ளியோடைடுடன் இணைக்கப்படும். இது mRNAவை ரிபோசோம் அடையாளம் காணவும், mRNA, RNAse நொதிகளால் அழிக்கப்படாமலும் பாதுகாக்கிறது. பெரும்பாலான mRNAக்களில் 3' முனையில் பல அடினைன்களால் ஆன வால் (Poly A) காணப்படும். இதில் 200-300 அடினைன்கள் காணப்படும். இதுவும் mRNA வை எக்ஸோ நியூக்ளியேஸ் நொதிகளிலிருந்து பாதுகாக்கிறது (படம் 3.5.).



படம் 3.5. யூகேரியோட் mRNA வின் ஒரு பகுதி

ரிபோசோம் RNA (Ribosomal RNA - rRNA)

அனைத்து செல்களிலும் புரதத்தைத் தயாரிக்கும் இயந்திரமான ரிபோசோமின் ஒரு அங்கம் rRNA. rRNAவின் பணி mRNAவின் குறியீடுகளை அமினோ அமிலங்களாக மாற்ற ஒரு தொழில் நுட்பத்தை அளிப்பதுடன் மொழிபெயர்த்தல் நிகழ்வின்போது பெப்டைடல் செயலை அளித்து rRNAக்களுடன் இடையீட்டு செயலாற்றலில் ஈடுபடுகிறது. இது ரிபோசோமின் எடையில் 50 சதவீதம் உள்ளது.

புரோகேரியோட் rRNA: செல்லின் மொத்த RNAவில் 80 சதவீதம் இது. ரிபோசோமின் சிறிய 30S அலகில் 16S rRNA உள்ளது. பெரிய 50S அலகில் இருவகை RNA க்கள்உள்ளன. அவை 5S மற்றும் 23S rRNA ஆகும்.

யூகேரியோட் rRNA : இவற்றில் 4 வகைகள் காணப்படுகின்றன. ரிபோசோமின் 60S பெரிய அலகில் 4718 நியூக்ளியோடைட்கள் வரிசை கொண்ட 28S rRNA வும், 160 நியூக்ளியோடைட்கள் வரிசை கொண்ட

5-8 S rRNA வும் காணப்படுகின்றன. மேலும் 60S அலகில் 5S rRNA உள்ளது. இது 120 நியூக்ளியோடைட்களைக் கொண்டது. 40S சிற்றலகில் 18S rRNA உள்ளது. இது 1874 நியூக்ளியோடைட்களுடன் காணப்படுகிறது.

rRNAவின் முக்கியத்துவம்: இது மருத்துவம் மற்றும் பரிணாமத்தில் முக்கியத்துவம் பெற்றுள்ளது. பல உயிர் எதிர் பொருட்களான எரித்ரோமைசன், குளோரம்பெனிகால், மைக்ரோகாக்கின், ஸ்பெக்டினோமைசின் போன்றவை தாக்கும் பகுதி rRNAதான். இது குறித்த ஆய்வுகட்காக 2009ம் வருடத்திற்கான நோபல் பரிசு தமிழகத்தைச் சார்ந்த அமெரிக்க வாழ் இந்தியரான **வெங்கடராமன் ராமகிருஷ்ணன்**, தாமஸ் ஸ்டெயிட்ஜ், அடா யோனத் (Venkataraman Ramakrishnan, Thomas A. Steitz, Ada E.Yonath) ஆகியோருக்கு கிடைத்துள்ளது.

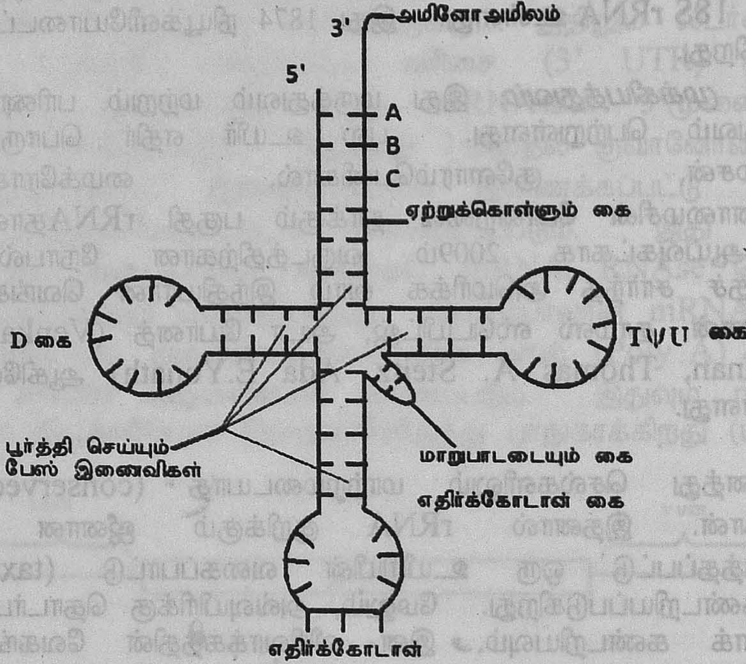
அனைத்து செல்களிலும் மாற்றமடையாத (conserved) ஜீன் rRNA தான். இதனால் rRNA குறிக்கும் ஜீனான rDNA வரிசைப்படுத்தப்பட்டு ஒரு உயிரியின் வகைப்பாட்டு (taxonomy) தொகுதி கண்டறியப்படுகிறது. மேலும், அவ்வுயிரிக்கு தொடர்புறவுள்ள உயிரிகளைக் கண்டறியவும், இன விரிவாக்கத்தின் வேகங்களைக் கண்டறியவும் rDNAவரிசை பயன்படுகிறது. இதற்காகவே பல ஆயிரம் rRNAவரிசைகள் கண்டறியப்பட்டு, RPP-II ஐரோப்பிய SFU என்ற தகவல் மையங்களில் (databases) சேமிக்கப்பட்டுள்ளன.

மாற்று RNA (Transfer RNA - tRNA)

மொழிபெயர்த்தல் நிகழ்ச்சியில் ரிபோசோமில் புரத உற்பத்தியின்போது வளரும் பாலிபெப்டைட் சங்கிலியில் ஒரு குறிப்பிட்ட அமினோ அமிலத்தைக் கொண்டுவந்து சேர்க்கும் சிறிய RNA மூலக்கூறான மாற்று RNA (74 - 95 நியூக்ளியோடைட்கள் கொண்டது), tRNA என்று அழைக்கப்படும். tRNA கரையும் RNA (sRNA) என்றும் அழைக்கப் படுகிறது. அமினோ அமிலம் இணைவதற்கு ஒரு 3' முனை கொண்டிருக்கும். இது அமினோ அசைல் சிந்தடேஸ் எனும் நொதியின் உதவியால் குறிப்பிட்ட அமினோ அமிலத்துடன் இணையும். மேலும் இது ஒரு மூன்று பேஸ் பகுதியான **எதிர்கோடான்** பகுதியைக் கொண்டிருக்கும். இப்பகுதி mRNAவின் கோடான் பகுதியுடன் இணைந்து கோடானின் செய்தியை அறிந்து கொள்ளும்.

tRNA முதனிலை, இரண்டாம் நிலை மற்றும் மூன்றாம் நிலை அமைப்பைக் கொண்டிருக்கும். இதன் இரண்டாம் நிலை (secondary)

அமைப்பு கிளாவர் இலை அமைப்பைப் போன்றிருக்கும். இதில் பல வேறுபட்ட பகுதிகள் காணப்படும் (படம் 3.6.).



படம் 3.6. t RNA அமைப்பு

1. 5' பாஸ்பேட் தொகுதி கொண்ட முனை.
2. 7 bp நீளமுள்ள 'ஏற்றுக் கொள்ளும்' (acceptor) பகுதி. இது 3'முனை. இதில் CCA என்ற நியூக்ளியோடைட்கள் காணப்படும். இப்பகுதியில்தான் அமினோ அமிலம் இணையும்.
3. D கை எனும் 46 bp நீளம் கொண்ட இது டைஹைட்ரோயுரிடின் கொண்ட வளையத்தில் முடியும்.
4. tRNAவின் மற்றொரு கை 5-6 bp நீளம் கொண்டது. இது முடியும் வளையப்பகுதி எதிர்க்கோடான் எனப்படும்.
5. 5 bp நீளம் கொண்ட T கை TψC எனும் வரிசையைக் கொண்டிருக்கும் ψ என்பது சூடோயுரிடின்.
6. மாறுபாடுள்ள கை: இது பெறும் வேறுபாடுகள் கொண்ட பகுதி. இதன் வேறுபாடுகளைப் பொறுத்து tRNA (i) வகுப்புI tRNA என்றும் (ii) வகுப்பு II tRNA என்றும் அழைக்கப்படுகின்றன.

4. மரபியல் தகவல்களைப் பராமரித்தல்: DNA இரட்டித்தல்

(Maintenance of Genetic Information: Replication of DNA)



செல் பிளத்தலின்போது, DNA மூலக்கூறு தம்மைப் போன்றே அமைப்புடைய ஒரு நகலை உற்பத்திசெய்யும் முறைக்கு இரட்டித்தல் என்று பெயர். புதிதாய் உருவான சங்கிலிகள் பெற்றோர் DNA சங்கிலியின் இழைகளைப் பூர்த்தி செய்வனவாக இருக்கும்.

DNA மூன்று முறைகளில் இரட்டிக்க வழியுள்ளது.

1. **பாதி பழமைப்பற்று இரட்டித்தல்** (Semi conservative): இம்முறையில் பெற்றோர் DNAவிலிருந்து உருவான DNAவின் இரு இழைகளில் ஒன்று பெற்றோர் DNAவிலிருந்து பெறப்பட்டதும், மற்றொன்று புதிதாக உருவான இழையுமாகும்.

2. **பழைமைப்பற்று இரட்டித்தல்** (Conservative): இம்முறையில் பெற்றோர் DNAவின் இருஇழைகளும் அப்படியே பாதுகாக்கப்பட்டு, புதிதாக ஒரு இரட்டை திருகு சுழல் உருவாக்கப்படுகிறது.

3. **சிதறுகிற இரட்டித்தல்** (Dispersive) **:** இம்முறையில் உருவாகும் புதிய இழைகள் ஒவ்வொன்றிலும் பெற்றோர் DNAவும் புதிதாய் உருவான DNAவும் மாறி மாறி காணப்படும்.

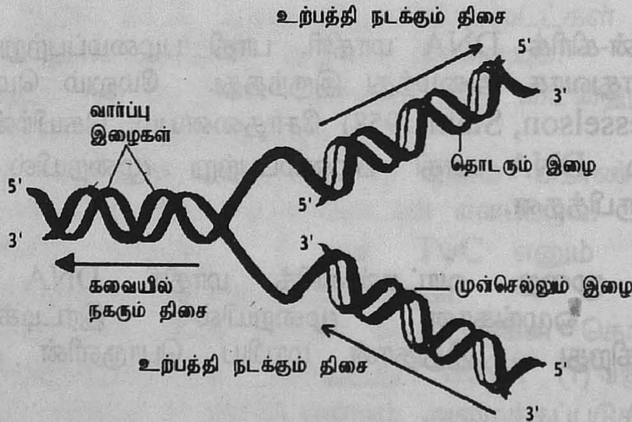
வாட்சன்-கிரிக் DNA மாதிரி, பாதி பழமைப்பற்று இரட்டித்தலை விளக்க தோதுவாக அமைந்து இருந்தது. மேலும் மெசல்சன் மற்றும் ஸ்டால் (Messelson, Stahl-1958) சோதனையும், கெயிர்ன்ஸின் (Cairns) சோதனையும் DNA பாதி பழமைப்பற்று முறையில் இரட்டிக்கிறது என்பதை நிரூபித்தன.

இரட்டித்தல் முறை: வாட்சன்-கிரிக் மாதிரி DNA எவ்வாறு ஒரு குறிப்பிட்ட ஒழுங்கான முறையில் இரட்டிக்கும் எனத் தெளிவாக்குகிறது. இதுதான் மரபிய பொருளின் ஒரு முக்கியப் பண்பாகும்.

இரட்டித்தல் கவை (Replication fork): DNA ஒரு குறிப்பிட்ட இடத்தில், ஒரு இழைவரி (zip) அல்லது கவைபோல் பிரியத் துவங்குகிறது. இரட்டைத் திருகுசுழலில் உள்ள இரு இழைகளும்

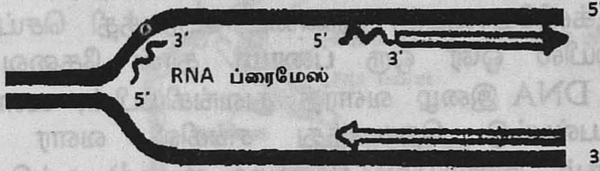
தனித்தனியே பிரியும்போது ஒவ்வொரு இழையிலும் புதிய நியூக்ளியோடைட்கள் சேர்க்கப்படுகின்றன. **DNA பாலிமரேஸ் நொதி,** வளரும் நியூக்ளியோடைட் சங்கிலியின் 3' முனையில் டி-ஆக்ஸி ரிபோ-நியூக்ளியோடைட்களை சேர்க்கின்றன. இவ்வாறு சேர்க்கப்படுவதற்கு DNA வின் பிரிந்த ஒவ்வொரு இழையும் வார்ப்பாக (அச்சாக) (template) பயன்படுகிறது. dATP, dGTP, dCTP, dTTP ஆகிய டி-ஆக்ஸிரிபோ நியூக்ளியோடைட்கள், DNAபாலிமரேசின் மூலப் பொருட்களாகப் பயன்படுகின்றன. எ.கோலியில் மூன்று DNA பாலிமரேஸ்கள் அடையாளம் காட்டப்பட்டுள்ளன. கார்ன்பர்க் (Kornberg -1959) முதலில் பிரித்தெடுத்த DNA பாலிமரேஸ் I அல்லது பால்I (pol I) முக்கிய பணியை மேற்கொண்டாலும், DNA பால்III பெரும்பாலான DNA உருவாக்கத்தில் ஈடுபடுகிறது.

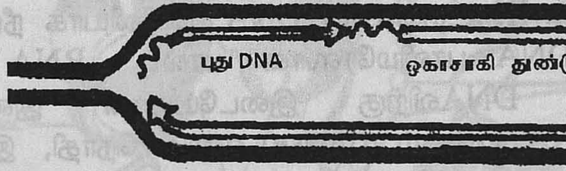
பிரிதல் முறை: DNA இழை பிரியுமிடமான இரட்டித்தல் கவையில் DNA பால்III மேல்நோக்கி நகர நகர, இரட்டை இழைகள் பிரிந்து இரு இழைகளும் தனித்தனியாகின்றன (படம் 4.1.). DNA பால்III இரட்டித்தல் கவையாக செயல்பட்டு சங்கிலிகளைப் பிரிக்கிறது. DNA பாலிமரேஸ் வளரும் 3' முனையில் நியூக்ளியோடைட்களை சேர்த்துக் கொண்டே வந்தாலும், இரண்டு எதிரெதிர் துருவ இழைகளில் ஒன்று மாத்திரமே இரட்டித்தல் கவை திசையில் இரட்டித்தலுக்கான வார்ப்பாக பயன்படுகிறது. இந்த இழையில் புது இழை உற்பத்தி தொடர்ந்து தடங்கலின்றி கவை நோக்கி நடைபெறும். இவ்விழைக்கு **முன்செல்லும் இழை** (leading strand) என்று பெயர்.



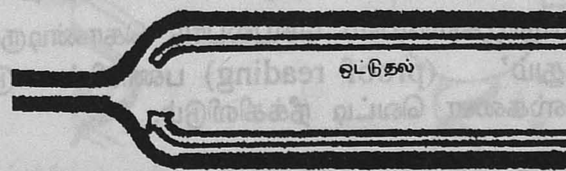
படம் 4.1. வளரும் கவையில் DNA இரட்டித்தல்

மற்றொரு அச்சிலும் (template) வளரும் 3'முனையில் உற்பத்தி நடைபெறுகிறது. ஆனால், இது மாற்று திசைநோக்கி அதாவது இரட்டித்தல் கவைக்கு எதிர்புறமாக நடைபெறுகிறது (படம் 4.1.). அதனால் உற்பத்தி தொடர்ந்து நீடித்து நடக்க இயலாது. சிறு சிறு துண்டுகளாகவே உற்பத்தி நடைபெறும். பாலிமரேஸ் ஒரு சிறு துண்டை உற்பத்தி செய்யும், பின் துண்டின் 5'முனைக்கு மீண்டும் திரும்ப வரும். அங்கு புதிதாய் பிரிந்த கவையால் வெளிப்படும் புதிய அச்சுப்பகுதியில் நியூக்ளியோடைட்களை சேர்த்து புதிய துண்டை உருவாக்கத் துவங்கும். இவ்வாறு புதிதாய் உருவாக்கப்படும் சிறு (1000-2000 நியூக்ளியோடைட்கள்) துண்டுகட்கு ஒகசாகி துண்டுகள் (Okazaki fragments) என்று பெயர்.









படம் 4.2. தொடரும் இழை உற்பத்தி நிலைகள்

DNA இரட்டித்தலில் மற்றொரு சிக்கல், DNA பாலிமரேஸால் புதிய சங்கிலியை நீட்டத்தான் முடியுமே தவிர, ஒரு சங்கிலியைத் துவக்க முடியாது. ஆகவே முன்செல்லும் இழையும் ஒவ்வொரு ஒகசாகி துண்டும் ஒரு **ப்ரைமர்** (primer) அல்லது நியூக்ளியோடைட்களால் ஆன சிறு சங்கலியால் துவக்கப்படும். அதாவது அவை வார்ப்பு இழையுடன் இணைந்து இரட்டை இழை DNAவின் ஒரு சிறு பகுதியை முதலில் உருவாக்கும்.படம் 4.2.ல் ப்ரைமர் காட்டப்பட்டுள்ளது. இந்த ப்ரைமர்கள் **ப்ரைமோசோம்** (primosome) எனப்படும் சில புரதங்களால் உற்பத்தி செய்யப்படுகிறது. ப்ரைமோசோமின் ஒரு முக்கிய அமைப்பு, **ப்ரைமேஸ்** (primase) எனப்படும் ஒரு வகை RNA பாலிமரேஸ் நொதியாகும். ப்ரைமேஸ் குரோமோசோமின் ஒரு குறிப்பிட்ட பகுதியைப் பூர்த்தி செய்யும் சிறு RNA (8-12 நியூக்ளியோடைட்) துண்டை உற்பத்தி செய்கிறது. முன் செல்லும் இழையில் ஒரே ஒரு ப்ரைமர் தான் தேவை. ஏனெனில் ப்ரைமரால் புது DNA இழை வளரத் துவங்கியபின், வளரும் DNAவே ப்ரைமராக செயல்பட்டு தொடர்ந்து சங்கிலி வளர வழிவகுக்கும். ஆனால் தொடரும் இழையில் (lagging strand) ஒவ்வொரு ஒகசாகி துண்டுக்கும் ஒரு ப்ரைமர் தேவை. ப்ரைமரைக் கொண்ட RNA சங்கிலி DNA பால் III உதவியால் DNA சங்கிலியாக நீளும்.

மற்றொரு DNA பாலிமரேஸான பால்I, RNA ப்ரைமர்களை அகற்றி விட்டு, DNAவிற்கு இடையேயான இடைவெளிகளை நிரப்பிவிடும். DNA லிகேஸ் (ligase) எனும் நொதி, இடைவெளியை நிரப்பும் DNA. இது DNA வின் 3' முனையை ஒகசாகி துண்டின் கீழோட்ட பகுதியின் 5' முனையுடன் இணைக்கும். இவ்வாறு உருவாகும் புது இழை **தொடரும் இழை** எனப்படும். DNA சங்கிலியை ஒட்ட உதவும் ஒரே நொதி லிகேஸ்தான்.

DNA இரட்டித்தலின் மிக முக்கியமான அம்சம் அதன் தவறே இழைக்காத, மிகச்சரியாக செயல்படும் முறை. 10^{10} நியூக்ளியோடைட்கட்கு ஒரே ஒரு தவறுதான் நேர வாய்ப்புள்ளது. இதற்குக் காரணம் பால்I நொதி, மற்றும் பால்III நொதிகள் இரண்டும், 3' மற்றும் 5' எக்ஸோநியூக்ளியேஸ் செயல்பாடு கொண்டிருப்பதுதான். இது 'தவறைத் திருத்தும்' (proof reading) பணியில் ஈடுபட்டு, தவறாகச் சேர்க்கப்படும் பேஸ்களை வெட்டி நீக்கிவிடும்.

ரெப்ளிசோம்: ஒரு சிறந்த இரட்டித்தல் இயந்திரம்: DNA இரட்டித்தலின் மற்றொரு சிறப்பம்சம் அது செயல்படும் வேகம். எ.கோலி குரோமோசோம் 40 நிமிடங்களில் இரட்டிக்கிறது. 5 மில்லியன் பேஸ் இணைகள், வினாடிக்கு 2000 நியூக்ளியோடைட்கள் என்ற வேகத்தில்

நகலெடுக்கப்படுகின்றன. ஆனால், வேகமாக செயல்படும்போது தவறு ஏற்படாமல் மிகச் சரியாகவும் செயல்படுகிறது. இவ்விரண்டிற்கும் காரணம் ரெப்ளிசோம் (replisome) எனப்படும் 'மூலக்கூறு இயந்திரம்'. கரணப்படுவதுதான். இது ஒரு நியூக்ளியோ-புரத கூட்டாகும்.

டோப்போஐசோமரேஸ்
இரட்டித்தல் கவை
நகரும் திசை
ஹெலிகேஸ்
அடுத்த ஒகசாகி துண்டு இங்கு துவங்கும்
RNA ப்ரைமர்
ப்ரைமேஸ்
RNA ப்ரைமர்
ஒகசாகி துண்டு
ஒற்றையிழை இணைப்பு புரதங்கள்
நழுவும் பற்றுக்கட்டை
முன் செல்லும் இழை
DNA பாலிமரேஸ் III
மைய அமைப்பு
DNA பாலிமரேஸ் I
தொடரும் இழை
லிகேஸ்

படம் 4.3. ரெப்ளிசோம் மற்றும் இரட்டித்தல் கவையில் காணப்படும் துணை புரதங்கள்

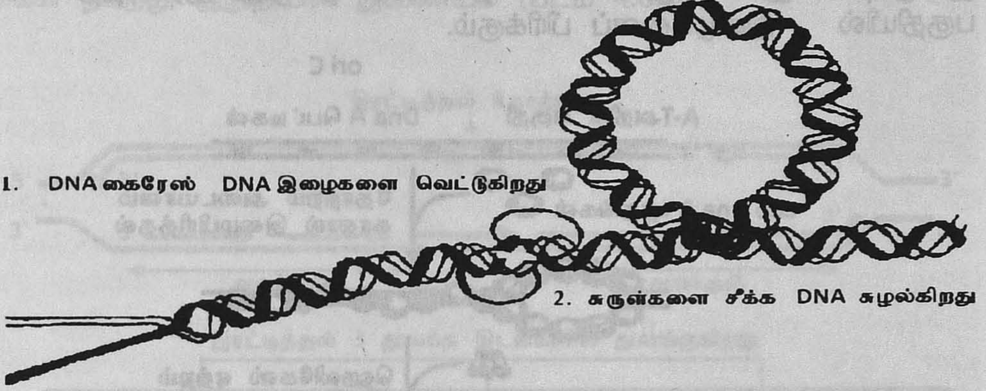
ரெப்ளிசோமின் பகுதிகள் யாவும் படம் 4.3.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது. இரட்டித்தல் கவையில் உள்ள பால்III நொதி, பால்III முழுநொதி

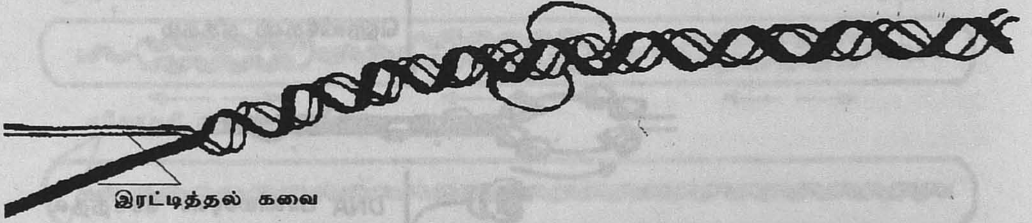
(holoenzyme) யின் ஒரு பகுதிதான். இந்த முழுநொதியில் இரு இயையூக்கமான (catalytic) மைய (core) அமைப்புகளும் பல துணை புரதங்களும் உள்ளன. ஒருமைய அமைப்பு, முன்செல்லும் இழையின் உற்பத்தியைக் கையாள்கிறது. மற்றொரு மையம் தொடரும் இழை உற்பத்தியைக் கவனிக்கிறது. சில துணை புரதங்கள், இரு இயையூக்கி மையங்களை இணைக்கும் பாலங்களாக செயல்பட்டு, முன்செல்லும் மற்றும் தொடரும் இழைகளின் உற்பத்தியை ஒருங்கிணைக்கும். தொடரும் இழை வளையம் போல் வளைந்து காணப்படுவதால், ரெப்ளிசோம் இரு இழைகளின் உற்பத்தியையும் ஒருங்கிணைத்து இரட்டித்தல் கவை நோக்கி நகர்கிறது. படம் 4.3.ல் மற்றொரு முக்கிய ஒரு துணை புரதமான நழுவும் பற்றுக்கட்டை(sliding clamp) காணப்படுகிறது. இது DNAவை சூழ்ந்து காணப்படுகிறது. இதன் உதவியால் பால்III நொதி, DNA மூலக்கூறுடன் ஒட்டிக் காணப்படுகிறது. ப்ரைமேஸ் நொதி RNA ப்ரைமரை உற்பத்தி செய்து ஒரு சில ரிபோநியூக்ளியோடைட்களை சேர்த்தபின், அங்கிருந்து நகர்ந்து சென்றுவிடும்.

சங்கிலி பிரிதல்: DNA சங்கிலி இரண்டாக வேகமாக பிரியும்போது, தனித்த ஒவ்வொரு சங்கிலியும் தமக்குள் சுழன்று சிக்கலாகிவிட வாய்ப்புள்ளது. இதற்காக ரெப்ளிசோமில் இரு நொதிகள் உள்ளன. ஒரு நொதி இரட்டைத் திருகு சுழலை திறக்கவும், மற்றொன்று தனித்த இழைகள் தமக்குள் சுருண்டு விடாமலும் செய்கின்றன. அவை முறையே **ஹெலிகேஸ்கள்** (helicases) மற்றும், **டோப்போஐஸோமரேஸ்கள்** (topoisomereses) எனப்படுகின்றன. இரட்டை திருகுதலை இணைக்கும் ஹைட்ரஜன் இணைப்புகளை ஹெலிகேஸ்கள் உடைத்து இரட்டை இழைகளைப் பிரிக்கும். நழுவும் பற்றுக்கட்டை புரதத்தைப்போலவே ஹெலிகேஸும் DNAவை சூழ்ந்திருக்கும். இங்கிருந்து இது வேகமாக இரட்டை இழையைப் பிரித்துவிடும். பிரிக்கப்பட்ட DNA இழைகளை நிலைப்படுத்த ஒற்றை இழை இணைப்பு புரதங்கள் (single strand binding proteins – SSB) உதவுகின்றன. இவை ஒற்றை இழையுடன் இணைந்து, அந்த ஒற்றை இழைகள் மீண்டும் மடிந்து, இரட்டை இழையாக மாறாமல் தடுக்கும்.

ஹெலிகேஸ்கள் இரட்டித்தல் கவையில் இழைகளைப் பிரிக்கும் போது, மற்ற இடங்களில் அதிக திருக்கங்கள் ஏற்பட்டு மிகையான சுருள்களாக (super coiling) மாறிவிடுகிறது. இவைகள் நீக்கப்பட்டால்தான் இரட்டித்தல் தொடர்ந்து நடைபெறும். **DNA கைரேஸ்** (DNA gyrase) எனும் டோப்போஐஸோமரேஸ் நொதிகள் இவற்றைச் செய்கின்றன. இவை DNAவின் ஓரிழையை வெட்டி DNA வைத் திருகச்செய்து மிகை சுருள்களை நீக்கிவிடுகிறது. பின் வெட்டப்பட்ட இடத்தை கைரேஸ் இணைக்கிறது (படம் 4.4.).

யூகேரியோட் ரெப்ளிசோம்கள் புரோகேரியோட் ரெப்ளிசோம்கள் செய்த பணி அனைத்தையும் செய்வதுடன், நியூக்ளியோசோம்கள் எனப்படும் புரத-DNA கூட்டுக்களை பிரித்து, பின் மீண்டும் இணைக்கும் பணிகளையும் செய்கிறது.





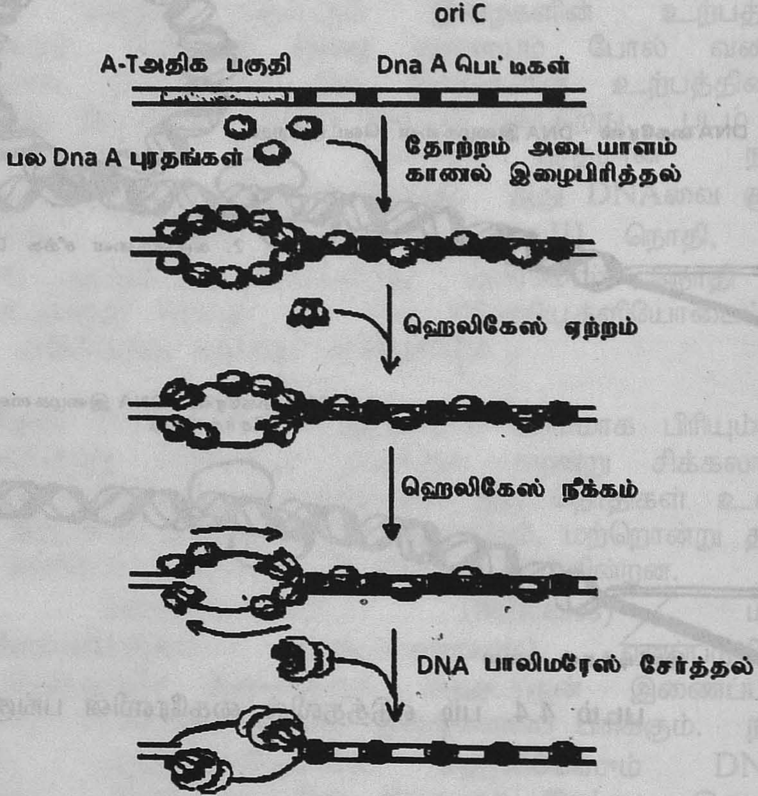
படம் 4.4. படி எடுத்தலில் கைரேஸின் பங்கு

ரெப்ளிசோம் உருவாக்கம் : இரட்டித்தல் துவக்கம்

யூகேரியோட்டுகளிலும், புரோகேரியோட்டுகளிலும், செல்லின் வாழ்நாளில் ஒரு குறிப்பிட்ட சமயத்தில், குரோமோசோமின் குறிப்பிட்ட இடத்தில் (துவக்க இடம்) ரெப்ளிசோம்கள் இணைக்கப்படுகின்றன.

எ.கோலியில் Ori C எனும் குறிப்பிட்ட இடத்தில் (படம் 4.5.) இரட்டித்தல் துவங்கி இருதிசைகளிலும் நடைபெறுகிறது. ரெப்ளிசோம் உருவாக்கத்தின் முதல் கட்டம் ‘DNaA பெட்டி’ எனும் 13 bp வரிசைப்பகுதியில் DNaA எனும் புரதம் இணைவதுதான். Ori C பகுதியில் மொத்தம் 5 ‘DNaA பெட்டிகள்’ காணப்படும். DNaA இணைந்ததும் A மற்றும் T நியூக்ளியோடைட்கள் பகுதியில் இழைபிரியும். ஏனெனில் A மற்றும் Tயை இரு ஹைட்ரஜன் பிணைப்புகள் இணைத்துள்ளன. C மற்றும் Gயை 3 இணைப்புகள் இணைக்கும். ஆகவே A மற்றும் Tயைப் பிரிப்பது எளிது. சங்கிலி

பிரிந்ததும் மேலும் பல DNaA புரதங்கள், பிரிந்த ஒற்றை இழைகளில் இணையும். DNaA துவங்கும் இடத்திலுள்ள ஒற்றை இழைகளைச் சூழ்ந்து காணப்படும்போது 2 ஹெலிகேஸ் புரதங்கள் (DNaB புரதம்) இழையுடன் இணைந்து 5' – 3' திசையில் நகர்ந்து இரட்டித்தல் கவை பகுதியில் இழைகளைப் பிரிக்கும்.

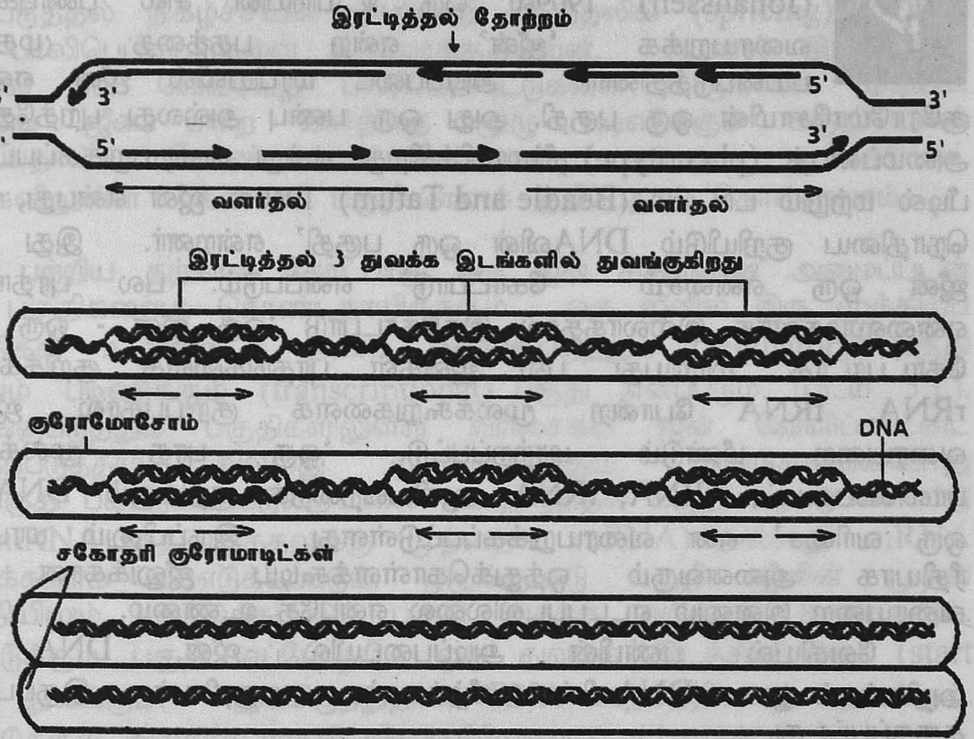


படம் 4.5. புரோகேரியோட்டுகளில் DNA உற்பத்தி இரட்டித்தல் ஆரம்பிக்கும் இடத்தில் துவக்கம்

ஹெலிகேஸ் மற்றும் பால்III முழுநொதி, இரட்டித்தல் கவைப் பகுதியில் இணைந்து புது DNA உற்பத்தியைத் துவங்கும். DNaA, ரெப்ளிசோமை உருவாக்க உதவினாலும், அது இரட்டித்தல் இயந்திரத்தின் ஒரு பகுதி அல்ல. அதன் பணி ரெப்ளிசோமை குரோமோசோமின் சரியான இடத்திற்குக் கொண்டு வருவதுதான்.

யூகேரியோட்டுகளில் இரட்டித்தல் துவக்கம்: எ.கோலியில் 20-40 நிமிடங்களில் இரட்டித்தல் முடியும். ஆனால் யூகேரியோட்டுகளில் 1 மணியிலிருந்து 100-200 மணிவரை இரட்டித்தல் நடைபெறும். ஏனெனில் பல குரோமோசோம்கள் காணப்படுவதுதான். இதனால்,

குரோமோசோம்களில் ஏராளமான இரட்டித்தல் துவங்கும் இடங்கள் காணப்படும். மனிதனின் 23 குரோமோசோம்களில் ஆயிரக்கணக்கான வளரும் கவைகள் காணப்படும். ஆகவே இரட்டித்தல் பல இடங்களில் துவங்கி நடந்து இறுதியில் இணையும் (படம் 4.6.).



படம் 4.6. இருதிசைகளில் நடைபெறும் DNA இரட்டித்தல்

யூகேரியோட்டுகளின் டீலோமியர் பகுதியில் டீரோமிரேஸ் (telomerase) என்ற நொதியின் உதவியால் இரட்டித்தல் நடைபெறுகிறது.

5. ஜீனின் மூலக்கூறு அறிவியல்
(Molecular Biology of Gene)



ஜீன் பலவாறாக வரையறுக்கப்படுகிறது. பாரம்பரியத்தின் அடிப்படை அலகை **ஜீன்** என்றழைத்தனர். ஜோகன்ஸன் (Johanssen) 1909ல் ஒரு உயிரியின் சில பண்புகளை வரையறுக்க 'ஜீன்' என்ற பதத்தை முதலில் பயன்படுத்தினார். அடிப்படை மரபியலில் ஜீன் என்பது குரோமோசோமின் ஒரு பகுதி. அது ஒரு பண்பு அல்லது புறத்தோற்ற அமைப்பைத் (phenotype) தீர்மானிக்கிறது என்று வரையறுக்கப்பட்டது. பீடில் மற்றும் டாட்டம் (Beadle and Tatum) 1940ல் ஜீன் என்பது, 'ஒரு நொதியை குறியிடும் DNAவின் ஒரு பகுதி' என்றனர். இது 'ஒரு ஜீன் ஒரு என்சைம் கோட்பாடு' எனப்படும். பல புரதங்கள் என்ஸைம்களாக இல்லாததால் இக்கோட்பாடு 'ஒரு ஜீன் - ஒரு புரத கோட்பாடாக' மாறியது. பல ஜீன்கள் புரதங்களைக் குறிக்காமல் rRNA, tRNA போன்ற மூலக்கூறுகளைக் குறிப்பதால் ஜீனின் வரையறை மீண்டும் மாற்றப்பட்டு, 'ஒரு புரத மூலக்கூறு, பாலிபெப்டைட், rRNA, tRNA ஆகியவற்றைக் குறிக்கும் DNAவின் ஒரு வரிசை' என வரையறுக்கப்பட்டுள்ளது. இருப்பினும் மரபியல் ரீதியாக அனைவரும் ஒத்துக்கொள்ளக்கூடிய ஜீனுக்கான ஒரு வரையறை இன்னும் எட்டப்படவில்லை என்பதே உண்மை.

வேதியல் பண்பின் அடிப்படையில் ஜீன், DNA என அறியப்பட்டது. DNAவில் கீழ்க்கண்ட பகுதிகள் இருப்பதாய் கருதப்பட்டது.

1) **ரெக்கான்** (Recon): குறுக்கெதிர் மாற்றம் மற்றும் மறுஇணைவு அடையும் திறன் கொண்ட பகுதி.
(2) **மியூட்டான்** (Muton): திடீர் மாற்றம் அடையும் சிறுபகுதி.
(3) **சிஸ்டரான்** (Cistron): DNAவின் செயல்புரியும் கூறு.
(4) **காம்பளான்** (Complan): இது DNAவுடன் பூர்த்தி செய்யும் பகுதி (குறை நிரப்பும் கூறு).
(5) **ஆபரான்**(Operon): பல ஜீன்களை கொண்ட இப்பகுதி இயக்கு ஜீனும் அமைப்பு ஜீன்களும் சேர்ந்து செயல்படும் ஒரு கூறு.
(6) **ரெப்ளிகான்**(Replicon): இது இரட்டிக்கும் கூறு.

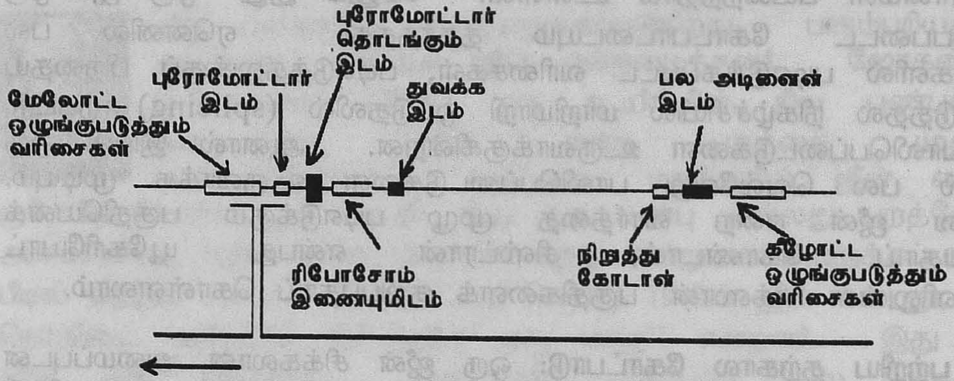
பொதுவாக ஜீன் என்ற வார்த்தையைப் பணியின் அலகான **சிஸ்ட்ரானைக்** குறிக்கப் பயன்படுத்துகிறோம். இருப்பினும் 1984ல் குளோவர் மற்றும் ஹோக்னஸ் (Clover and Hogness) , **பிரிவு ஜீன்களை** (split genes) கண்டுபிடித்தபின், ஜீனுக்கும் சிஸ்டரானுக்கும்

உள்ள உறவு பற்றிய கருத்து பின்னடைவு பெற்றது. பிரிவு ஜீன்களில் எக்ஸான்கள் மாத்திரமே பணி அலகுகள் ஆகும். இன்ட்ரான்கள் பயனற்றதாக உள்ளன. மேலும் இது 'ஒரு ஜீன்-ஒரு பாலிபெப்டைட்' கோட்பாட்டையும் தகர்த்தது. ஏனெனில் பல உயிரிகளில் படிஎடுக்கப்பட்ட வரிசைகள், படிஎடுத்தலுக்குப் பிந்தைய புதப்படுத்தல் நிகழ்ச்சியில் மாறிமாறி ஒட்டுதலில் (splicing) ஈடுபட்டு, பல பாலிபெப்டைடுகளை உருவாக்குகின்றன. ஆனால் இங்கு ஒரு ஜீனால் பல வெவ்வேறு பாலிபெப்டைடுகளை உருவாக்க முடியும். ஆகவே ஜீன் என்ற வார்த்தை முழு படிஎடுக்கும் பகுதியெனக் குறிப்பதாய் கொண்டால், சிஸ்ட்ரான் என்பது யூகேரியோட் ஜீன்களிலுள்ள 'எக்ஸான்' பகுதிகளைக் குறிப்பதாய் கொள்ளலாம்.

ஜீன் பற்றிய தற்கால கோட்பாடு: ஒரு ஜீன் சிக்கலான அமைப்புடன் பல பகுதிகளைக் கொண்டதாயிருக்கும். ஒரு ஜீனில் இரு முக்கியப் பகுதிகள் உள்ளன. அவை **ஒழுங்குபடுத்தும்** (regulatory) **பகுதி** மற்றும் **படிஎடுக்கும்** (transcriptional) **பகுதி** எனப்படும் (படம் 5.1.). ஒழுங்குபடுத்தும் பகுதிகளிலுள்ள வரிசைகள் ஜீன் வெளிப்பாட்டை கட்டுப்படுத்தும் அல்லது ஒழுங்குபடுத்தும். படிஎடுத்தலின்போது இப்பகுதி படிஎடுக்கப்படுவதில்லை. படிஎடுத்தல் பகுதி படிஎடுக்கப்பட்டு hn mRNA (பதப்படுத்தலுக்கு முந்தைய mRNA) அல்லது mRNA மூலக்கூறாக படிஎடுக்கப்படும். ஒழுங்குபாடு பகுதி ஜீனின் முதல் பகுதியிலும், படிஎடுக்கப்படும் பகுதி அதற்கு அடுத்தும் காணப்படும். படிஎடுக்கும் பகுதி எப்போதுமே ஒரு துவக்க இடத்திலிருந்து (start site) துவங்கும். இங்கிருந்துதான் RNA உற்பத்தியைத் துவக்கும். படிஎடுக்கும் அலகின் முதல் நியூக்ளியோடைட் +1 எனக் குறிக்கப்படும். படிஎடுத்தல் துவக்க இடத்திற்கு மேலே உள்ள பகுதி **மேலோட்டப்** (upstream) **பகுதி**யெனவும், கீழே உள்ள பகுதி **கீழோட்டப்** (down stream) **பகுதி**யெனவும் அழைக்கப்படும். ஒழுங்குபாடு பகுதிகளில் உள்ள நியூக்ளியோடைட்கட்கு எதிர்மறை (-) எண்கள் தரப்படும். படிஎடுக்கும் பகுதி நியூக்ளியோடைட்கட்கு + என்ற எண்களும், ஒழுங்குபாடு பகுதியில் உள்ள நியூக்ளியோடைட்கட்கு – என்ற எண்களும் தரப்படும்.

ஒழுங்குபாடு பகுதி: இப்பகுதியில் **புரமோட்டர்** (promoter), **ஆக்டிவேட்டர்** (activator), **சைலென்சர்** (silencer), **என்ஹான்சர்** (enhancer) என்ற பல பகுதிகள் காணப்படும். இதில் புரமோட்டர் மிக முக்கிய பகுதி. இது RNA பாலிமரேஸை ஜீனுடன் இணையவைத்து படிஎடுத்தலைத் துவக்கி வைக்கிறது. இதில் மாறாத (conserved) வரிசைகளைக்கொண்ட இரு பகுதிகள் உள்ளன. முதல் பகுதி அடையாளம் காணும் (recognition) பகுதி. இப்பகுதியை RNA

பாலிமரேஸ் அடையாளம் காண்கிறது. இரண்டாவது பகுதி RNA பாலிமரேஸ் இணையுமிடம். இது படிஎடுத்தல் துவக்க இடத்திற்கு அருகாமையில் உள்ளது.



படம் 5.1. ஒரு ஜீனின் பொது அமைப்பு

புரோகேரியோட் புரமோட்டர்: இதல் இரு முக்கிய பகுதிகள் உண்டு. முதல் பகுதி மாறாத வரிசையான TTGACAவைக் கொண்டிருக்கும் இது -35 பகுதி எனப்படும். இரண்டாவது பகுதியும் மாறாத வரிசையாக TATAATவைக் கொண்டிருக்கும்.

யூகேரியோட் புரமோட்டர்: இது மிகவும் சிக்கலானது. இதிலும் இரு அமைப்புகள் உள்ளன. முதல் இடம் **'CATT பெட்டி'** எனப்படும். இதன் மாறாத வரிசை GG (C/T) CAATCT ஆகும். இது -7 மற்றும் -80 இடங்கட்கு இடையே காணப்படும். இரண்டாவது பகுதி 'TATA பெட்டி'(TATA Box) அல்லது **'ஹாக்னஸ் பெட்டி'** (Hogness box) எனப்படும். இது -19 மற்றும் -27 இடங்களுக்கிடையே காணப்படும்.

கீழோட்ட புரமோட்டர்கள்: சில ஜீன்களில் படிஎடுத்தல் துவக்க இடத்திற்கு கீழாக +55 மற்றும் +80 இடங்கட்கு இடையே புரமோட்டர் காணப்படும்.

என்ஹான்சர்கள்: ஜீன்களின் வெளிப்பாட்டை பல மடங்கு பெரிதாக்கும் வரிசை இது.

மற்ற ஒழுங்குபாடு பகுதிகள்: யூகேரியோட்டுகளில் ஆக்டிவேட்டர்கள் மற்றும் சைலன்சர்கள் என்ற அமைப்புகளும் கூடுதலாகக் காணப்படும்.

படி எடுக்கும் பகுதி: படிஎடுக்கும் பகுதி, படிஎடுக்கும் துவக்க இடத்தில் துவங்கி முடியும் (terminator) இடத்தில் முடிகிறது புரோகேரியோட்டுகளில் பியூரின் பேஸ்கள் (A அல்லது G) படிஎடுத்தல் துவக்கப்பகுதியில் காணப்படும். இதற்கு அடுத்து காணப்படும் பகுதி **ரிபோசோம் இணையும் இடம்** அல்லது **சைன் டால்கர்னோ** வரிசை (Shine Dalgarno) எனப்படும். யூகேரியோட்டுகளில் இப்படிப்பட்ட வரிசை இல்லை.

6. ஜீன் வெளிப்பாட்டின் மூலக்கூறு உயிரியல்: புரோகேரியோட், யூகேரியோட்டுகளில் படிஎடுத்தல் மற்றும் மொழிபெயர்த்தல்

(Molecular Biology of Gene expression: Transcription and Translation in Prokaryotes and Eukaryotes)



செல்கள் மற்றும் உயிரிகளின் வளர்சிதைமாற்றம் மற்றும் வளர்திறன்கள் ஆகியவற்றைத் தீர்மானிக்கும் பாலிபெப்டைட் சங்கிலிகளை உருவாக்கும் ஜீன்களில் உள்ள செய்திகள், பாலிபெப்டைட் சங்கிலிகட்கு மாற்றப்படும் மூலக்கூறு நிகழ்வுக்கு **ஜீன் வெளிப்பாடு** என்று பெயர். DNAவிலிருந்து செய்திகள் புரதத்திற்கு மாற்றப்படும் முறை கிரிக்கின் (1958) **'மைய உறுதிக் கோட்பாடு'** (Central dogma) எனப்படும்.

$$\text{DNA} \longrightarrow \text{RNA} \longrightarrow \text{புரதம்}$$

சில சமயம் RNAதான் DNA உற்பத்தியைக் கட்டுப்படுத்துகிறது. RNA **தலைகீழ் படிஎடுத்தல்** (reverse transcription) மூலம் DNAவை உற்பத்தி செய்கிறது. பின் இது புரதத்தை உற்பத்தி செய்யும்.

$$\text{DNA} \rightleftarrows \text{RNA} \longrightarrow \text{புரதம்}$$

இந்தக் கண்டுபிடிப்பிற்காக 1975ல் டெமின் மற்றும் பால்டிமோர் (Temin and Baltimore) நோபல் பரிசு பெற்றனர். இக்கோட்பாட்டிற்கு டெமினிசம் (teminism) என்று பெயர்.

ஜீன் வெளிப்பாட்டின் பல்வேறு நிலைகளின் சுருக்கம்:

1. DNAவின் ஒரு இழையின் ஒரு குறிப்பிட்ட பகுதியின் நியூக்ளியோடைட் வரிசையை வார்ப்பாக (template) பயன்படுத்தி, அடுத்தடுத்த நிலைகளில் ஒரு பூர்த்தி செய்யும் RNA இழையை RNA பாலிமரேஸ் என்ற நொதியின் தூண்டுதலால் உருவாக்கப்படும் நிகழ்ச்சி. mRNA இம்முறையில் உருவாகிறது. இதற்கு **படிஎடுத்தல்** (transcription) என்று பெயர்.

2. யூகேரியோட்டுகளில் உருவான RNA, நியூக்ளியசில் சில வேதியியல் மாற்றங்கட்கு உட்படுத்தப்படும். இதற்கு **RNA பதப்படுத்தப்படல்** (RNA processing) என்று பெயர்.

3. mRNA மூலக்கூறின் நியூக்ளியோடைட் வரிசைகள் ஒரு குறிப்பிட்ட வரிசையில் அமினோ அமிலங்களை இணைத்து ஒரு பாலிபெப்டைட் வரிசை உருவாகும். இம்முறை **மொழிபெயர்த்தல்** (translation) எனப்படும்.

ஆகவே ஒரு பாலிபெப்டைட் சங்கிலியில் உள்ள அமினோ அமில வரிசை ஒரு ஜீனின் குறியீட்டு வரிசையில் (coding sequence) குறிக்கப்படுகின்றன.

படிஎடுத்தல் (Transcription)

RNA பாலிமரேஸ் என்ற நொதி DNA இழைகளில் ஒன்றை வார்ப்பாக அல்லது அச்சாக (template) பயன்படுத்தி அதிலுள்ள நியூக்ளியோடைட்களிலிருந்து பூர்த்தி செய்யக்கூடிய (குறை நிரப்பக் கூடிய) (complementary) RNA இழையை படிப்படியாக உருவாக்கும் நிகழ்ச்சிக்கு **படிஎடுத்தல்** என்று பெயர்.

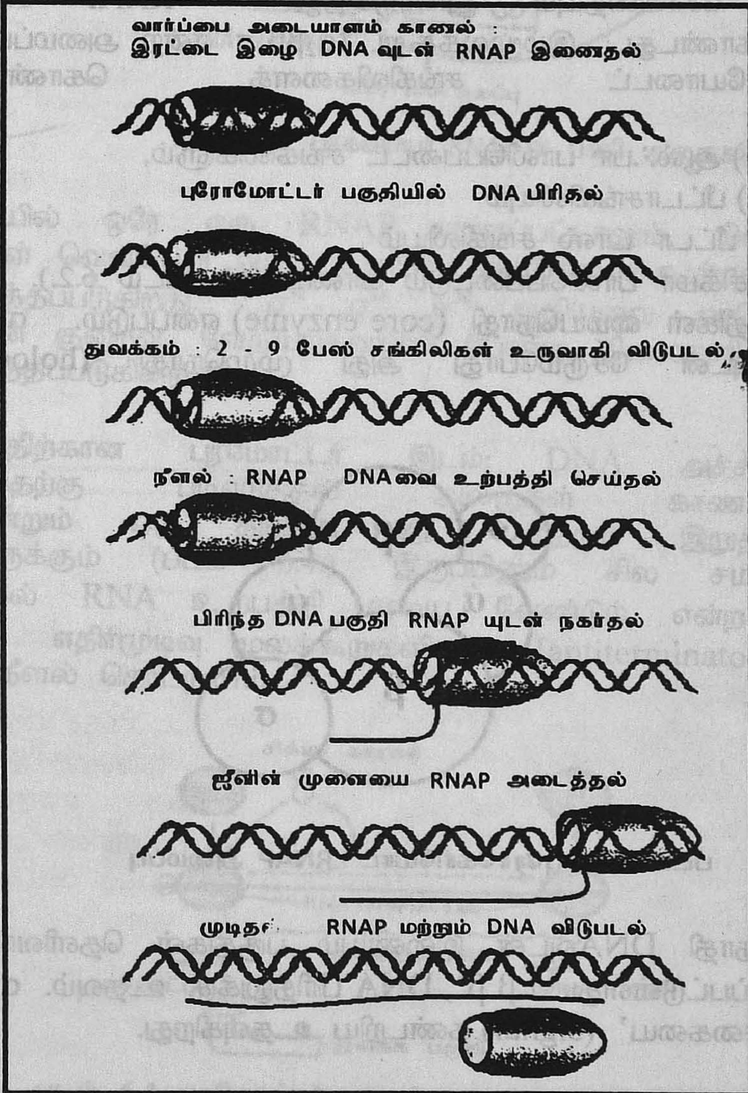
உணர் மற்றும் எதிர் உணர் (sense and antisense) படிஎடுத்தல்: பொதுவாக DNAவின் ஒரு இழை மாத்திரம் படிஎடுக்க பயன்படும். அதற்கு **உணர்இழை** என்று பெயர். ஆனால் தற்கால ஆய்வுகள் படிஎடுத்தல் இரு இழைகளிலும் எதிரெதிர் திசையில், அடுத்தடுத்த வரிசைகளில் நடைபெறுவதாகக் கண்டுபிடிக்கப்பட்டுள்ளது. இந்நிகழ்வுக்கு உணர் மற்றும் எதிர் உணர் படிஎடுத்தல் என்று பெயர். 'படிஎடுத்தல் நிகழ்வுக்கு ஏராளமான புரதங்கள் தேவைப்படுகின்றன. இது புரோகேரியோட்டுகளிலும், யூகேரியோட்டுகளிலும் வேறுபடும். யூகேரியோட்டுகளில் கிட்டத்தட்ட 60 புரதங்கள் தேவைப்படுகின்றன. தேவைப்படும் முக்கிய புரதங்கள் RNA பாலிமரேஸ் நொதிகள் மற்றும் படிஎடுத்தல் காரணிகள் ஆகும்.

புரோகேரியோட்டுகளில் படிஎடுத்தல்: DNA வார்ப்பைப் பயன்படுத்தி mRNA உற்பத்தி செய்யப்படுகிறது. படிஎடுத்தலுக்கு உதவும் முக்கியமான நொதி **RNA பாலிமரேஸ் (RNAP)**. ஒரு படிஎடுத்தல் அலகில் ஒன்றுக்கும் மேற்பட்ட ஜீன்கள் காணப்படும். படிஎடுத்தல் 4 நிலைகளில் நடைபெறுகிறது.

1. **வார்ப்பை அடையாளம் காணல்:** இந்நிலையில் RNAP, இரட்டைஇழை DNAவின் புரோமோட்டர் பகுதியுடன் இணைகிறது. பின் DNA இழைகள் பிரிகின்றன. இதனால் படிஎடுத்தல் குமிழ் உருவாகிறது.
2. **துவக்கம்:** இதில் RNAவின் முதல் நியூக்ளியோடைட் உற்பத்தி செய்யப்படுகிறது.
3. **நீளல்:** இந்நிலையில் RNAP, DNA இழைமீது நகர்கிறது. mRNA இழை வளரத்துவங்குகிறது. RNA நகர நகர, அது DNAவின் இரட்டை இழையைப் பிரித்துவிடுகிறது. வளரும் RNA சங்கிலியின் 3' முனையில் நியூக்ளியோடைட்கள் புதிதாய் சேர்க்கப்பட்டு பாஸ்போடைஎஸ்டர் இணைவிகளால் (bonds)

இணைக்கப்படுகின்றன. இவ்வாறு RNA- DNA கலப்பு (hybrid) உருவாகிறது.

4. **முடிதல்**: DNAவில் டெர்மினேட்டர் (முடித்தல் terminator) என்ற பகுதி கண்டறியப்படும்போது, mRNA சங்கிலியில் மேலும் பேஸ்கள் சேர்க்கப்படுவதில்லை. இந்த நிகழ்வுகள் யாவும் படம் 6.1.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது.



படம் 6.1. படி எடுத்தல் நிலைகள்

துவக்கம்

RNAP: எ.கோலி பாக்டீரியா போன்ற புரோகேரியோட்டுகளில் ஒரே ஒரு RNAPதான் mRNA, tRNA, rRNA ஆகிய நொதிகள் உற்பத்திக்குக் காரணமாய் உள்ளன. ஆனால் யூகேரியோட்டுகளில் இப்பணிகளைச் செய்ய 3 வெவ்வேறு RNAPகள் உள்ளன. RNAP, DNAவுடன் ரிபோநியூக்ளியோஸைட்களில் பேஸ்கள் இணைவதை மேற்பார்வையிடுவதுடன், அவற்றிற்கிடையே பாஸ்போடைஎஸ்டர் இணைகள் சேர்வதையும் தூண்டுகிறது. RNAP சிக்கலான அமைப்பு கொண்டது. இம்மூலக்கூறு, '$\alpha_2\beta\beta'\sigma$' என்ற அமைப்பில் 5 பாலிநியூக்ளியோடைட் சங்கிலிகளைக் கொண்டுள்ளது.

இதில்

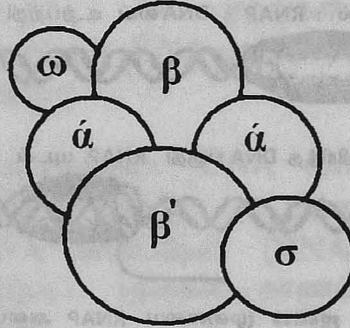
இரு (α) ஆல்.்.பா பாலிபெப்டைட் சங்கிலிகளும்,

ஒரு (β) பீட்டாசங்கிலியும்

ஒரு β' பீட்டா டாஸ் சங்கிலியும்

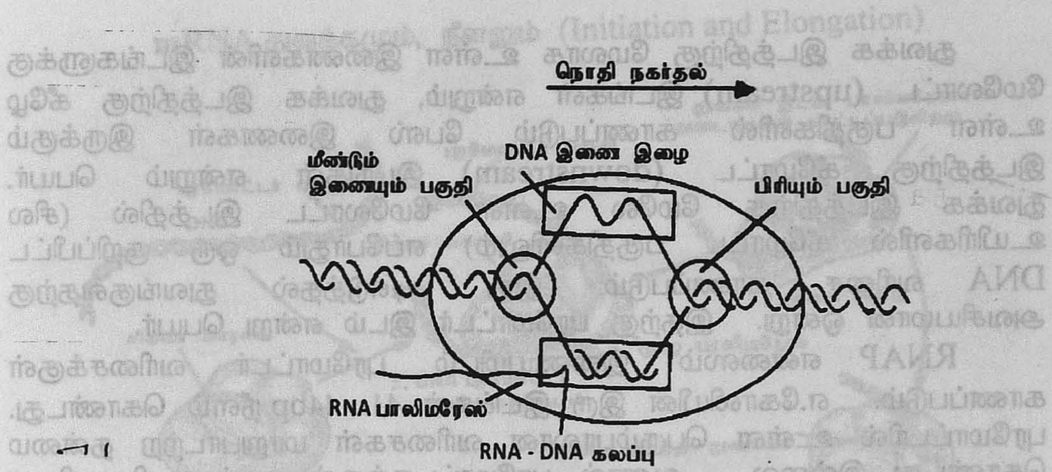
ஒரு σ சிக்மா பாலிபெப்டைடும் காணப்படும் (படம் 6.2.).

$\alpha_2\beta\beta'$ பகுதிகள் மையநொதி (core enzyme) எனப்படும். σ காரணி மையநொதியுடன் சேரும்போது அது முழுநொதி (holoenzyme) ஆகிறது



படம் 6.2. புரோகேரியோட் RNAP அமைப்பு

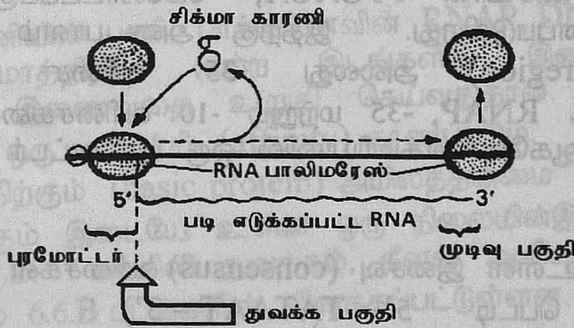
முழுநொதி DNAவுடன் இணையும் பகுதிகள் தெளிவாக படம் 6.3.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது. β β', DNA பிரிதலுக்கு உதவும். σ காரணி 'துவக்க சைகையை' (signal) கண்டறிய உதவுகிறது.



படம் 6.3. பாக்டீரியா RNAP ன் பணி அலகுகள்

எ.கோலியில் ஒரே ஒரு RNAP காணப்பட்டாலும், வெவ்வேறு σ காரணிகள் வெவ்வேறு வகை பாலிபெப்டைடுகளை உற்பத்தி செய்யப் பயன்படுத்தப்படுகிறது. σ^{32}, σ^{54}, σ^{28} ஆகியவை அதிக வெப்பம், நைட்ரஜன் குறைவு, வேதியற்கவர்ச்சி போன்ற நிலைகளில் முறையே பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

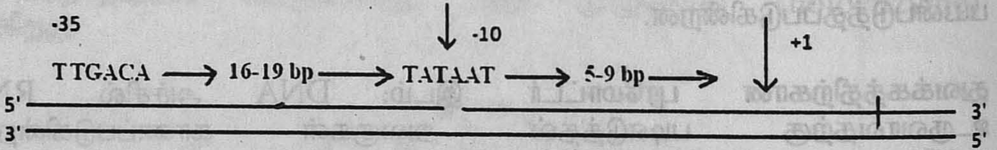
துவக்கத்திற்கான புரமோட்டர் இடம்: DNA அச்சில் RNA உருவாவதற்கு படிஎடுத்தல் அலகுகள் காணப்படுகின்றன. ஒவ்வொன்றும் ஒரு துவக்க இடம் மற்றும் இறுதி சைகை கொண்டிருக்கும் (படம் 6.4.). இருப்பினும் சில சமயம் இந்த சைகையில் RNA உற்பத்தி முடிய வேண்டும் என்ற அவசியம் இல்லை. **எதிர்முடிவு மூலக்கூறுகளினால்** (antiterminator molecule) சங்கிலி நீளல் தொடரலாம்.



படம் 6.4 புரமோட்டர் பகுதியுடன் படி எடுத்தல் அலகு

துவக்க இடத்திற்கு மேலாக உள்ள இணைகளின் இடங்களுக்கு மேலோட்ட (upstream) இடங்கள் என்றும், துவக்க இடத்திற்கு கீழே உள்ள பகுதிகளில் காணப்படும் பேஸ் இணைகள் இருக்கும் இடத்திற்கு கீழோட்ட (downstream) இடங்கள் என்றும் பெயர். துவக்க இடத்திற்கு மேலே உள்ள மேலோட்ட இடத்தில் (சில உயிரிகளில் கீழோட்ட பகுதிகளிலும்) எப்போதும் ஒரு குறிப்பிட்ட DNA வரிசை காணப்படும். இது படிஎடுத்தல் துவங்குவதற்கு அவசியமான ஒன்று. இதற்கு புரமோட்டர் இடம் என்று பெயர்.

RNAP என்ஸைம் இணையுமிடம் புரமோட்டர் வரிசைக்குள் காணப்படும். எ.கோலியின் இரு இடங்கள் 41- 44bp நீளம் கொண்டது. புரமோட்டரில் உள்ள பெரும்பாலான வரிசைகள் மாறுபாடற்ற தன்மை கொண்டது இல்லை. ஆனால் புரமோட்டருக்குள் உள்ள சிறுவரிசை மாறுபாடற்றது (conserved) ஆகும். 90%க்கு மேற்பட்ட உயிரிகளில் துவக்க பேஸ் பியூரின் ஆகும். துவக்க இடத்திலிருந்து மேலோட்டப் பகுதியில் காணப்படும் 6 bp பகுதி (TATAAAT) க்கு பிரிப்நௌ பெட்டி என்று பெயர். (Pribnow box- இது ஒரு அறிவியல் வல்லுநரின் பெயர்)இது எல்லா புரமோட்டர்களிலும் காணப்படுகிறது (படம் 6.5.).

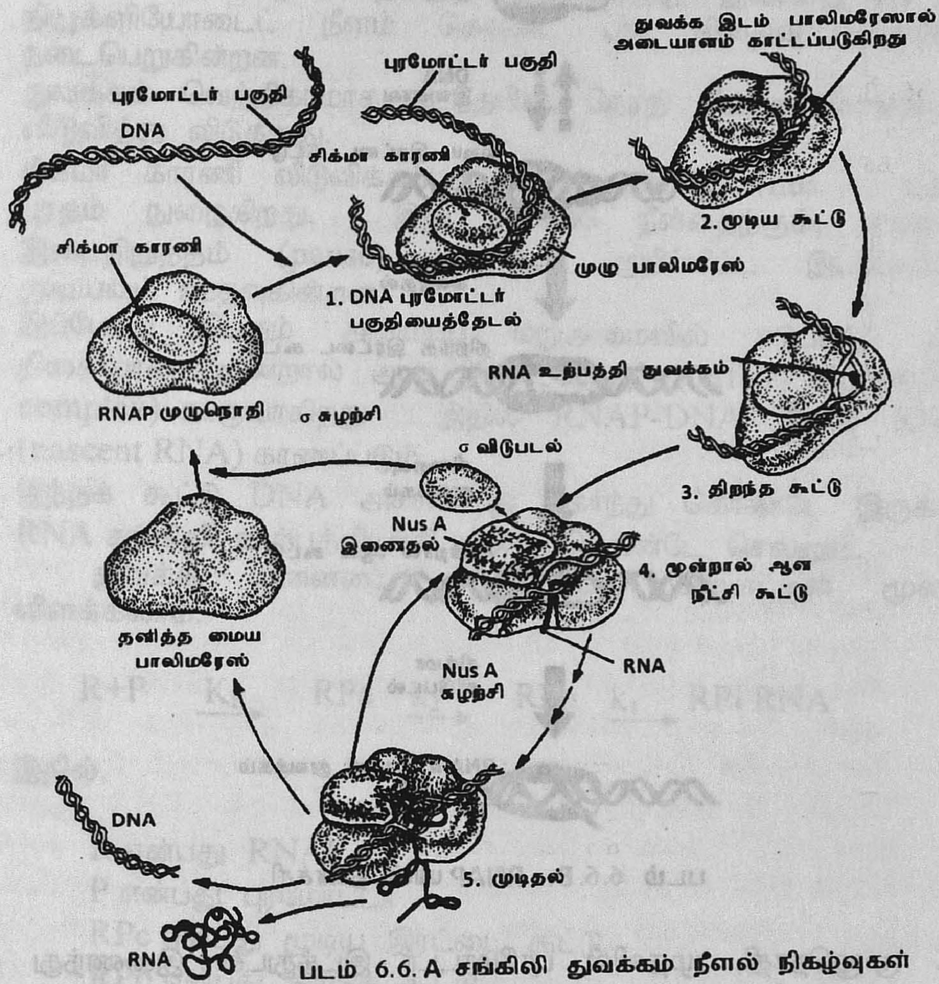


படம் 6.5. எ.கோலி புரமோட்டர் பகுதி

பிரிப்நௌ பெட்டியின் மையப்பகுதி வழக்கமாக 10bp மேலோட்டப்பகுதியில் காணப்படும். இதற்கு -10 வரிசை என்று பெயர். மற்றுமொரு வரிசையான TTGACA, மேலோட்டப்பகுதியின் -35 bp இடத்தில் காணப்படுகிறது. இதற்கு அடையாளம் காணும் இடம் (recognition region) அல்லது -35 வரிசை என்று பெயர். இணைவதற்காக RNAP, -35 மற்றும் -10 வரிசைகளை அடையாளம் காண்கிறது. ஆகவே பாக்டீரியாவில் ஒரு புரமோட்டர் 3 பகுதிகளைக் கொண்டுள்ளது.

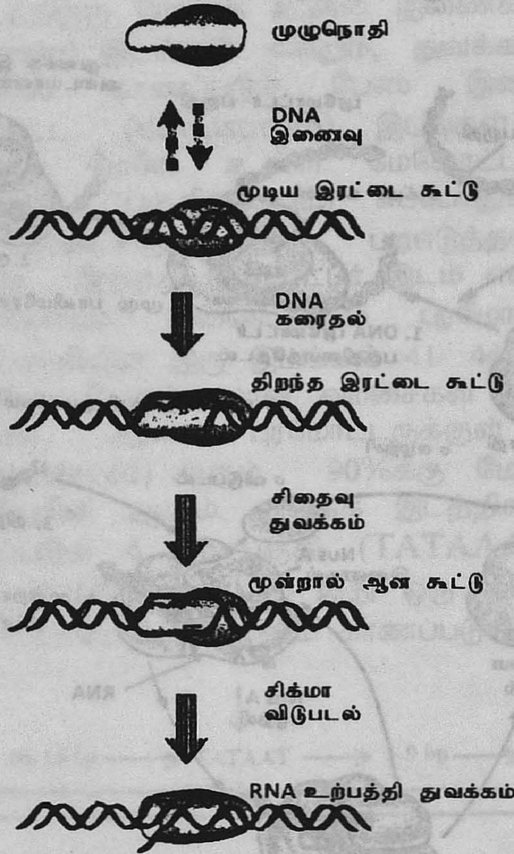
1 -10 bpயில் உள்ள இசைவு (consensus) வரிசைகள்
(-10 பெட்டி 5'– TATAAT – 3')
2. -35 bpயில் உள்ள இசைவு வரிசைகள்
(-35 பெட்டி 5' – TTGACA – 3')
3. துவக்க இடம்.

mRNA துவக்கமும், நீளலும் (Initiation and Elongation)



படம் 6.6. A சங்கிலி துவக்கம் நீளல் நிகழ்வுகள்

சிக்மா காரணியின் பணி, பாக்டீரியாவின் RNAP, DNAவின் புரமோட்டர் இடத்தில் மாத்திரமே (மற்ற இடங்களில் இணைந்து விடாமல்) உறுதியாக இணைவதை உறுதி செய்வதுதான். மைய நொதிக்கு, DNAவுடன் ஒரு கவர்ச்சி (affinity) காணப்படும். இதற்குக் காரணம் கார புரதத்திற்கும் (basic protein) அமிலத்தன்மை கொண்ட நியூக்ளிக் அமிலத்திற்கும் இடையே உள்ள ஒரு நிலைமின்இயல் (electrostatic) கவர்ச்சியாகும். சங்கிலி துவக்கம், நீளல் ஆகிய நிகழ்ச்சிகள் படம் 6.6.A மற்றும் 6.6.B படங்களில் விளக்கப்பட்டுள்ளன.



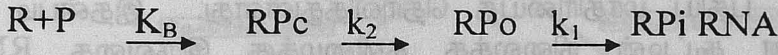
படம் 6.6. **B. RNAP** யின் நகர்ச்சி

1. முழுநொதி, முதலில் புரமோட்டர் இடத்துடன் இணைந்து ஒரு மூடிய புரமோட்டர் கூட்டுப்பொருளை (closed promoter complex) உருவாக்குகிறது. இதில் DNA, இரட்டை திருகு சுழலாகவே உள்ளது.
2. இந்த மூடிய கூட்டு, பின் உருகி பிளந்து DNA இழைகள் பிரிந்து 'திறந்த-இரட்டை-புரமோட்டர் கூட்டாக' (Open-binary-promoter complex) மாறுகிறது.
3. பிரிந்ததற்குப்பின், அடுத்தநிலை முதலிரண்டு நியூக்ளியோடைட்கள் சேர்வதுதான். பின் அவையிரண்டும் பாஸ்போடைஎஸ்டர் பிணைப்பால் (bond) இணைக்கப்படுகின்றன. மேலும் நியூக்ளியோடைட்கள் சேர்க்கப்பட்டு, RNA சங்கிலி 9 பேஸ்கள் வரை நீள்கிறது. பெரும்பாலும் இதற்குப்பின், நொதி சங்கிலியை விடுவித்து விடுகிறது. இதற்கு **'சிதைவு துவக்கம்'** (abortive initiation) என்று பெயர். பின் முதல் பேஸிலிருந்து

நொதி சங்கிலி துவக்கத்தைத் துவக்குகிறது. இவ்வாறு 2-9 bp நியூக்ளியோடைட் நீளம் கொண்ட பல சிதைவு துவக்கம் நடைபெறுகின்றன.

4. துவக்கம் வெற்றிகரமாக நடந்தபின், நொதி சிக்மா காரணியை விடுவித்து விடுகிறது.
5. சிக்மா காரணி விடுவிக்கப்பட்டவுடன் நூஸ் A (nus A) என்ற புரதம் நுழைகிறது. இது சங்கிலி நீள்வதற்கும், சங்கிலி இடைநிறுத்தம் (pause) ஏற்படவும், குறிப்பிட்ட இடங்களில் முடியவும் உதவுகின்றன.
6. இப்போது பெரும் அமைப்பு மறுஅமைவில் ஈடுபட்டு, ஒரு நிலையான 'மூன்றால் ஆன நீட்சி கூட்டு' (tertiary elongation complex) உருவாகிறது. இதில் RNAP-DNA- இளம் RNA (nascent RNA) காணப்படும்.
7. இந்தக் கூட்டு DNA அச்சின்மீது நகர்ந்து கொண்டே இருக்க, RNA சங்கிலி உற்பத்தியாகி நீண்டு கொண்டே செல்லும்.

துவக்க வினையை கீழ்க்கண்ட சமன்பாட்டின் மூலம் விளக்கலாம்.



$$R+P \xrightarrow{K_B} RPc \xrightarrow{k_2} RPo \xrightarrow{k_1} RPi\ RNA$$

இதில்,

R என்பது RNAP
P என்பது புரமோட்டர்
RPc என்பது மூடிய இரட்டை கூட்டு
RPo என்பது திறந்த கூட்டு
RPi RNA என்பது மூன்றால் ஆன கூட்டு.
K_B என்பது சமன்பாட்டு நிலை (equilibrium constant)
k_2 மற்றும் k_1 என்பது வேகநிலை (rate constant)

சங்கிலி நீளல் (Chain elongation)

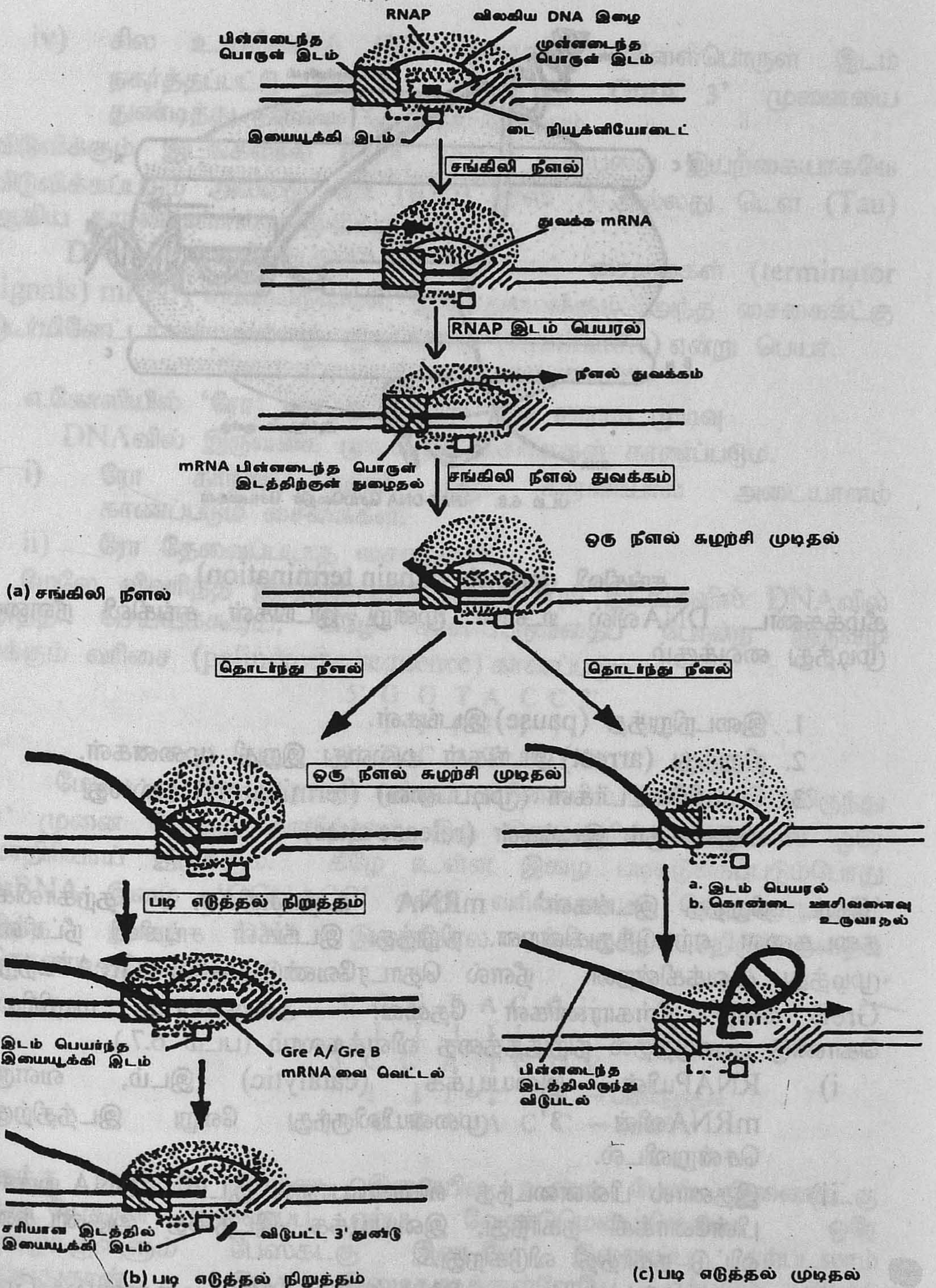
சங்கிலி எவ்வாறு நீள்கிறது என்பதை சாம்பர்லின் (Chamberlain) 1993ல் விளக்கினார். DNA அச்சின்மேல் RNAP, 'அங்குலப்புழு' (inch worm) போன்ற நகர்ச்சியால் (translocotion) நகர்கிறது. இவர் விளக்கிய மாதிரியில் (model) DNA அச்சின்மீது RNAP ஒரு அங்குலப்புழு ஊர்வதைப்போல் சிறிது சிறிதாய் நகரும் (படம் 6.7.). RNAP யில் மூன்று இணையும் இடங்கள் உள்ளன.

ஒன்று DNA இணையும் இடம் மற்றும் RNA இணைவதற்கான இரு இடங்கள். அவைகட்கு **முன்னடைந்த விளைபொருள் இடம்** (leading product site), **பின்னடைந்த விளைபொருள் இடம்** (lagging product site) என்றும் பெயர். ஒவ்வொரு நீளல் சுழற்சியிலும், முன்னடைந்த விளைபொருள் இடத்தில் 10 நியூக்ளியோடைட்கள் நிரம்புகின்றன. முன்னடைந்த விளைபொருள் இடம் முழுவதும் நிரம்பிய பின் RNAP 10 நியூக்ளியோடைட் நீளத்திற்கு முன்னோக்கி நகரும். இப்போது முன்னடைந்த விளைபொருள் இடத்திலிருந்த நியூக்ளியோடைட்கள் யாவும், பின்னடைந்த விளைபொருள் இடத்திற்கு நகர்ந்து சென்றுவிடும். இவ்வாறு முன்னடைந்த விளைபொருள் இடம் காலியாகிறது. இப்போது இது அடுத்த நீளல் சுழற்சிக்குத் தயாராகிறது. இவ்வாறாக தொடர்ந்து சங்கிலி நீள்கிறது.

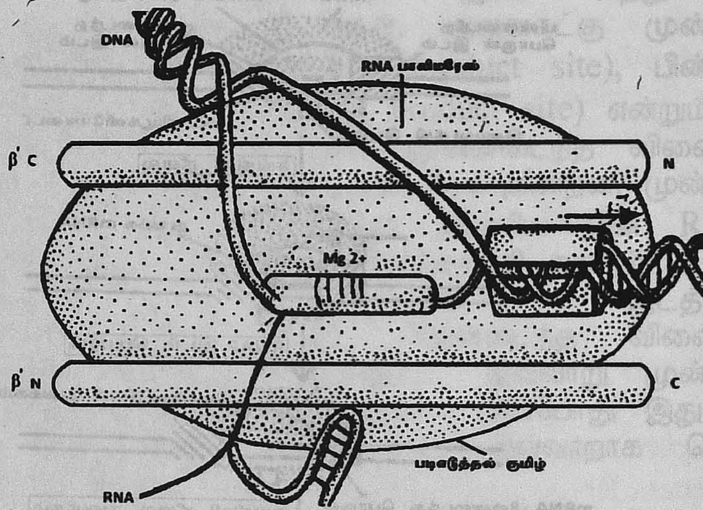
RNA-DNA கலப்பு காணப்படும் இடத்தில் வீங்கி காணப்படும் பகுதி **'படிஎடுத்தல் குமிழ்'** (transcription bubble) எனப்படும். இந்த பகுதிதான் மூன்றால் ஆன நீளல் கூட்டிற்கு நிலைத்த தன்மையைத் தருவதாய் கருதப்பட்டது. ஆனால் தற்கால ஆய்வு இக்கருத்தை கேள்விக்குறியாக்கி, நிலைந்த தன்மைக்கு ஒரு புதிய மாதிரியைத் தெரிவித்துள்ளது. இதன்படி மூன்றால் ஆன கூட்டின் நிலைத்த தன்மைக்கு இருவகை RNA-DNA செயலெதிர் செயல்கள் (interaction) காரணமாகும் (படம் 6.8.).

1.முன் செயலெதிர் செயல்: இது வளரும் RNA முனைக்கு முன்பாக நடைபெறும். இதற்கு படிஎடுத்தல் கவைக்கு (transcription fork) முன்பாக, DNA இரட்டை இழையின் 7-9 பேஸ் இணைகள் தேவை. இதில் RNAPயின் β' சிற்றலகின் NH2- முனையில் மாறுபாடற்ற துத்தநாக விரல் கூறுகள் (Zinc-finger motif) தேவைப்படும்.

2.பின் செயலெதிர் செயல்: படிஎடுத்தல் நடக்குமிடத்திற்குப் பின்பாக அச்சு DNA இழையின் 5 நியூக்ளியோடைட்களும், படிஎடுத்தல் நடக்குமிடத்திற்கு முன்பாக ஒரு நியூக்ளியோடைடும் இதற்குத் தேவை. இதில் சிற்றலகின் COOH – முனை ஈடுபட்டிருக்கும்.



படம் 6.7. சங்கிலி நீளலை விளக்கும் 'அங்குலப் புழு' மாதிரி



படம் 6.8. RNAP-DNA செயலெதிர் செயல்கள்

சங்கிலி முடிதல் (Chain termination)

கீழ்க்கண்ட, DNAவில் உள்ள மூன்று இடங்கள் சங்கிலி நீளலை முடித்து வைக்கும்.

1. இடைநிறுத்த (pause) இடங்கள்.
2. நிறுத்து (arrest) இடங்கள் அல்லது இறுதி முனைகள்.
3. டெர்மினேட்டர்கள் (முடிப்பவை) (terminators) அல்லது விடுவிக்கும் இடங்கள் (release sites).

'இடை நிறுத்த இடங்கள்' mRNA உற்பத்திக்கு தற்காலிகத் தடைகளை ஏற்படுத்துகின்றன. நிறுத்து இடங்கள் சங்கிலி நீட்சியை முடித்து வைக்கின்றன. நீளல் தொடரவேண்டுமெனில் GreA மற்றும் GreB என்ற நீள்காரணிகள் தேவை. அங்குலப்புழு மாதிரியை கொண்டு படிஎடுத்தல் நிறுத்தத்தை விளக்கலாம் (படம் 6.7.).

i) RNAPயின் இயையூக்க (catalytic) இடம், வளரும் mRNAவின் 3' முனையிலிருந்து வேறு இடத்திற்குச் சென்றுவிடல்.

ii) இதனால் பின்னடைந்த 'விளைபொருள் இடம்' DNA அச்சில் பின்னோக்கி நகர்ந்து, இயையூக்க இடத்தை அதனிடத்தை விட்டு நகர்த்தி விடுகிறது.

iii) படி எடுக்கப்பட்ட mRNA வின் 3' முனையை GreB துண்டித்து விட்டு, புதிய 3' முனையை உருவாக்கும். இப்போது நீளல் தொடரும்.

iv) சில உயிரிகளில் இடம் நகரலால், விளைபொருள் இடம் நகர்த்தப்பட்டு விடும். அப்போது GreA 3' முனையை துண்டித்து நீளலை தொடரச் செய்யும்.

விடுவிக்கும் இடங்களால் RNA, RNAP ஆகியவை இயற்கையாகவே விடுவிக்கப்படும் அல்லது ரோ (Rho), நூஸ் A அல்லது டௌ (Tau) ஆகிய காரணிகளால் விடுவிக்கப்படும்.

DNAவில் காணப்படும் சில முடிக்கும் சைகைகள் (terminator signals) mRNA சங்கிலிநீளலை முடித்துவைக்கும். அந்த சைகைகட்கு டெர்மினேட்டர்கள் அல்லது முடிப்பவை (terminators) என்று பெயர்.

எ.கோலியில் 'ரோ' சார்ந்த மற்றும் 'ரோ' சாராத முடிவு

DNAவில் இருவகை முடிக்கும் சைகைகள் காணப்படும்.

i) ரோ காரணி எனும் புரத காரணியால் அடையாளம் காணப்படும் சைகைகள்.

ii) ரோ தேவைப்படாத சைகைகள்.

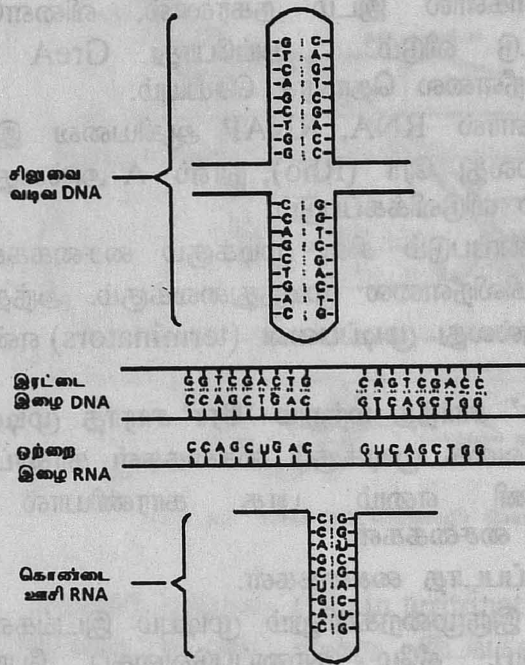
மேலே விவரித்த இருமுறைகளிலும் முடியும் இடங்களில் DNAவில் பூர்த்தி செய்யக்கூடிய, கீழே காணப்படுவதைப் போன்ற இருவழி ஒக்கும் வரிசை (palindrome sequence) காணப்படும்.

```
5' G G T A C C 3'
   I I I I I I
3' C C A T G G 5'
```

மேலே உள்ள இருவழி ஒக்கும் வரிசையில் 5' முனையிலிருந்து 3' முனை நோக்கி வாசித்தால் இரு இழைகளில் உள்ளவை ஒரே மாதிரியாய் இருக்கும். கீழே உள்ள இழை படிஎடுக்கப்படும்போது mRNA இழை 'GGUACC' என்ற வரிசையைக் கொண்டிருக்கும். இந்த இழை DNA இழைபோல தலைகீழ் திருப்பத்தைக் கொண்டிருக்கும்.

```
5' G G T A C C 3'
   I I I I I I    → DNA
3' C C A T G G 5'
   ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓    → படிஎடுத்தல்
   G G U A C C    → mRNA
```

இதற்கு அர்த்தம், இரட்டை இழையில் உள்ள பேஸ் இணைகட்கு இடையேதான் இணைப்பு ஏற்பட வேண்டுமென்பதில்லை. ஒரே இழைக்குள்ளும் பேஸ்கட்கு இடையே இணைப்பு ஏற்படலாம் என்பதுதான். இந்த இழைகளுக்குள்ளேயே ஏற்படும் பேஸ் இணைவால் இரட்டை இழை DNA சிலுவை வடிவத்தையும், mRNA கொண்டை ஊசி (hairpin) அமைப்பையும் பெறும் (படம் 6.9.).



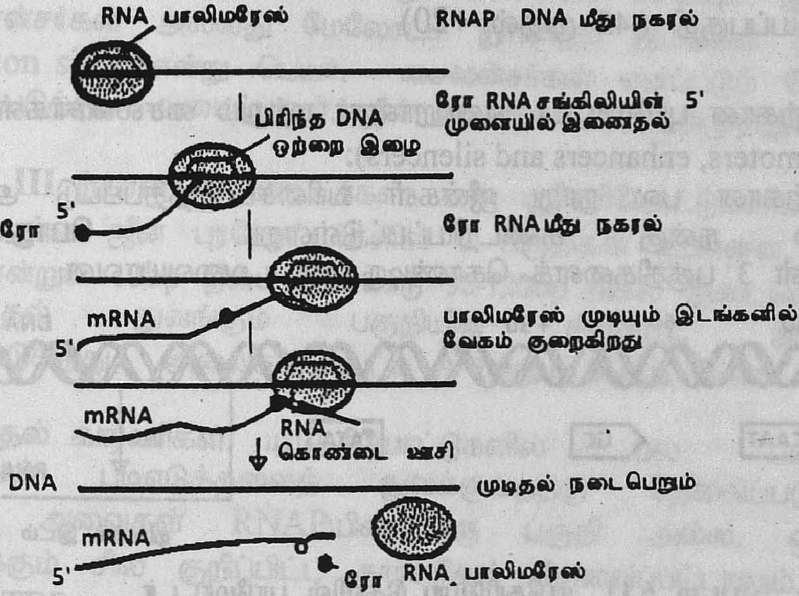
படம் 6.9. **DNA , RNA வின் இரண்டாம் நிலை தோற்றம்**

ஆகவே DNAவில் முடிக்கும் வரிசை வந்ததும், mRNAவில் உள்ள படிஎடுக்கப்பட்ட பேஸ் இணைகள் கொண்டை ஊசி வடிவத்தைப் பெறும். mRNAவில் உள்ள கொண்டை ஊசி வடிவங்கள் RNA பாலிமரேஸின் வேகத்தைக் குறைத்து படிஎடுத்தலில் தற்காலிக நிறுத்தத்தை ஏற்படுத்தும். இப்போது ரோ புரதம் வளரும் mRNA சங்கிலியின் 5' முனையில் இணைந்து பின் மேல் நோக்கி நகரும். பின் அது RNAP ஐ அடைந்து, mRNAவை DNAவிலிருந்து விடுவிக்கும். இப்போது RNAவும், ரோ காரணியும் பிரிந்துவிடும்.

ரோ சாராத முடிதலில், DNA வார்ப்பில் அடுத்தடுத்து A பேஸ்களும், mRNAவில் அடுத்தடுத்து U பேஸ்களும் காணப்படும். ஆகவே ஒரு பலவீனமான rU-dA பேஸ் இணைவு காணப்படும். கொண்டை ஊசி வளைவு அமைப்பின் காரணமாக RNAPயின் வேகம் குறையும்போது rU-dA உடைந்து mRNA விடுவிக்கப்படுகிறது (படம் 6.10.).

எதிர் முடிதல் (Antitermination)**:** சில சமயம் டெர்மினேட்டர் காரணிகள் இருந்தாலும், வேறு சில காரணிகள் RNAவுடன் இணைவதால், mRNA சங்கிலி உருவாக்கம் முடிவதில்லை. இக்காரணிகட்கு **எதிர் டெர்மினேட்டர்** (antitermination) காரணிகள் என்று பெயர். இந்நிகழ்வு **எதிர்முடிதல்** எனப்படும். லாம்டா பேஜில்

N எனும் ஜீன் எதிர்முடிதல் காரணியான *p*Nஐ உற்பத்தி செய்யும். இது DNAவின் முடிதல் இடங்களைக் கடக்க உதவும். இதனால் mRNA உற்பத்தி தொடரும்.



படம் 6.10. படி எடுத்தலில்
ரோ காரணியின் செயல்பாடு

யூகேரியோட்டுகளில் படிஎடுத்தல்

RNAP வகைகள்: யூகேரியோட்டுகளில் படிஎடுக்க 3 வகை RNAPகள் உள்ளன. அவற்றின் பண்புகள் படிஎடுத்தலைத் தடுக்கும் α அமானிடின் போன்ற காரணிகளுக்கான கூருணர்தல் தன்மை (sensitivity) கொண்டு வகைப்படுத்தப்பட்டுள்ளன (அட்டவணை 6.1.).

அட்டவணை 6.1.

நொதி, காணுமிடம்	உற்பத்தி பொருள், அளவு	α அமானிடினுகான கூருணர்தல்
RNAP I (நியூக்ளியோலஸ்)	rRNA (50-70%)	கூருணர்தல் இல்லை
RNAP II (நியூக்ளியோபிளாசம்) (pol II)	hnRNA(20-40%) mRNA	கூருணர்தல் உண்டு.
RNA III (நியூக்ளியோபிளாசம்)	tRNA (~10%)	உயர்விலங்குகளில் மாத்திரம் கூருணர்தல்

ஒவ்வொரு நொதியும் இரு பெரிய மற்றும் 8-10 சிறிய அலகுகள் கொண்ட பெரிய புரதங்களால் ஆனது. வெவ்வேறு RNAPகளுக்கு பல புரமோட்டர் வரிசைகள் அடையாளம் காணப்பட்டுள்ளன.

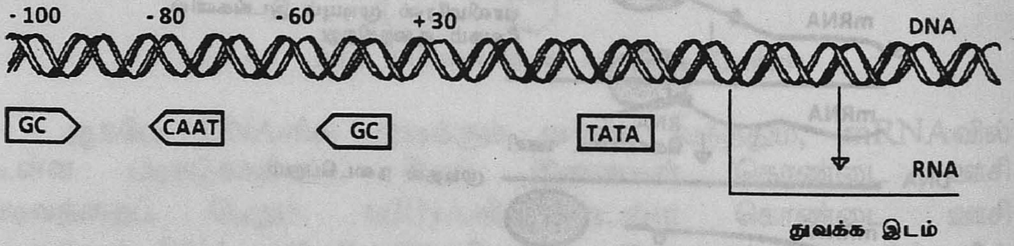
RNAPகளுக்கான புரமோட்டர்கள்: இதில் இரு பகுதிகள் உள்ளன.

i) ஒரு GC நிறைந்த மேலோட்ட (-180 முதல் -107) கட்டுப்பாட்டு பகுதி (UCE)

ii) படிஎடுத்தல் பகுதியின்மேல் ஏறிக்காணப்படும் ஒரு மையப்பகுதி (-45 முதல் +20)

RNAP II விற்கான புரமோட்டர், என்ஹான்சர் மற்றும் சைலன்சர்கள் (RNAP II promoters, enhancers and silencers):

RNAP II விற்கான பல நூறு ஜீன்கள் வரிசைப்படுத்தப்பட்டு அதன் புரமோட்டரும் நன்கு கண்டறியப்பட்டுள்ளது. **பொதுவான புரமோட்டர்கள்** 3 பகுதிகளைக் கொண்டிருக்கும். அவையாவன:



படம் 6.11. யூகேரியோட்டுகளில் புரமோட்டர் இடங்களைக் காட்டும் ஒரு DNA துண்டு

TATA பெட்டி (ஹோக்னஸ் பெட்டி), **CAAT பெட்டி** மற்றும் **GC' பெட்டி** (படம் 6.11.). அவை துவக்கப்பகுதியில் துவங்கி காணப்பட்டு -25 bp மற்றும் 60-bp ஆகிய பகுதிக்குள் மையம் கொண்டிருக்கும் RNAP II வில் இருமையப் பகுதிகள் உள்ளன. அவை (1) -20 முதல் -30 bp பகுதியில் காணப்படும் TATA பெட்டி (2) படிஎடுக்கும் பகுதிமேல் ஏறிக் காணப்படும் ஒரு துவக்க (Inr-Initiator) கூறு (motif). RNAP II புரமோட்டர்களில் இந்த மையப்பொருள் ஒன்று ($TATA^+ In^-$ அல்லது $TATA^- In^+$) அல்லது இரண்டு ($TATA^+ In^+$) மையப் பொருட்களைக் கொண்டிருக்கும் அல்லது இவை இரண்டுமே இல்லாதிருக்கும் ($TATA^- In^-$).

மேலோட்டப்பகுதியின் மேற்புறம் ஒரு CAAT பெட்டி காணப்படும். இது துவக்கத்திற்கு அத்தியாவசியமானது. இது -70 bp மற்றும் - 80

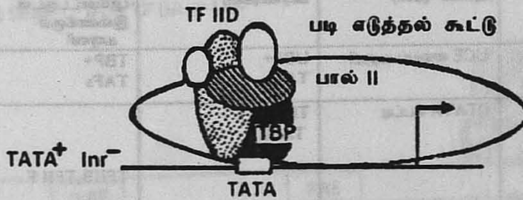
bp ஆகிய இடங்களுக்கு நடுவில் காணப்படும். மற்றொரு வரிசையான GC பெட்டி மேலோட்டப்பகுதியின் -60 மற்றும் -100 bp பகுதிகட்கு இடையே காணப்படும்.

TATA பெட்டி மற்றும் Inr மையப் பகுதிகள் சரியான இடத்தில் TFIID/IBP காரணிகள் உதவியுடன் RNAPஐ அமர்த்துகிறது.

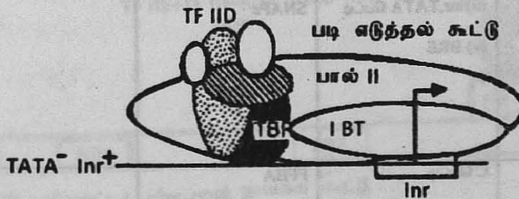
மேலோட்டப்பகுதியில் 100 அல்லது 200 bp பகுதியில் காணப்படும் சில பகுதிகள் பாதிக்கப்பட்ட ஜீனில் படிஎடுத்தல் வேகத்தை 200 மடங்கு அதிகரிக்கும் பணியைச் செய்யும். இவைகட்கு **என்ஹான்சர்கள்** அல்லது மேலோட்ட தூண்டும் இடங்கள் (upstream activation sites) என்று பெயர். **சைலன்சர்கள்** எனப்படும் வேறு சில ஒழுங்குபடுத்தும் அமைப்புகள், ஜீன் வெளிப்பாட்டை அமுத்துகின்றன.

RNAP III ற்கான புரமோட்டர்கள்: பல யூகேரியோட்டுகளின் RNAP IIIல் உள்ள ஜீன் புரமோட்டர்களில் 2 பகுதிகள் உள்ளன. அவை ஒவ்வொன்றும் 10bp நீளம் கொண்டு 30-120bp அகல இடைவெளிக்குள் படிஎடுத்தல் துவங்கும் பகுதியின் கீழோட்ட இடங்களில் காணப்படுகிறது. அவைகள் பெட்டி A மற்றும் பெட்டி B எனப்படும்.

படிஎடுத்தல் காரணிகள்: யூகேரியோட்டுகளில் பல படிஎடுத்தல் காரணிகள் படிஎடுத்தலைத் துவக்குவதற்கு தேவைப்படுகின்றன. ஆனால் அவைகள் RNAPயின் ஒரு பகுதி அல்ல. ஒவ்வொரு RNAPக்கும் சில குறிப்பிட்ட காரணிகள் தேவைப்பட்டாலும், TFIID மற்றும் TBP எனும் காரணிகள் மூன்று RNAP கட்கும் தேவைப்படும்.



(a) TATA பெட்டியில் படி எடுத்தல் கூட்டு உருவாதல்



(b) படி எடுத்தல் கூட்டு துவக்க (Inr) பொருள் உருவாதல்

படம் 6.12. ஒரு படி எடுத்தல் கூட்டு

துவங்கும் இடத்திலிருந்து மேலேட்டப்பகுதியிலுள்ள DNA வரிசைகளில் பல படிஎடுத்தல் காரணிகள் இணைவதன் மூலம் படிஎடுத்தல் துவங்குகிறது. பல காரணிகள் RNAPயை DNAவுடன் இணைக்க உதவுகிறது. இதன்மூலம் ஒரு முன் துவக்க கூட்டு (preinitiation complex -PIC) அல்லது படிஎடுத்தல் கூட்டு (transcription complex) உருவாகிறது. இந்த கூட்டு உருவான பின்னர் படிஎடுத்தல் துவங்குகிறது. ஒரு படிஎடுத்தல் கூட்டு படம் 6.12.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது.

முன் துவக்க கூட்டு கீழ் கண்ட நிலைகளில் உருவாகிறது.

i) நியூக்ளியேஷன்: புரோமோட்டர்களை அடையாளம் காண்பதும், பின் ஒரு படிஎடுத்தல் காரணி இணைவதும்.
ii) RNAPவை புரமோட்டருடன் இணைக்கும் ஒரு காரணி சேர்தல்.
iii) மூன்றாம் நிலையில் RNAP நுழைதல்
iv) நான்காம் நிலையில் கூட்டு முதிர்ச்சி அடைதல்.

படிஎடுத்தலில் ஈடுபடும் DNA வரிசைகள், படிஎடுத்தல் காரணிகள், பல்வேறு ஜீன்கள் அட்டவணை 6.2.ல் தரப்பட்டுள்ளது.

அட்டவணை 6.2.

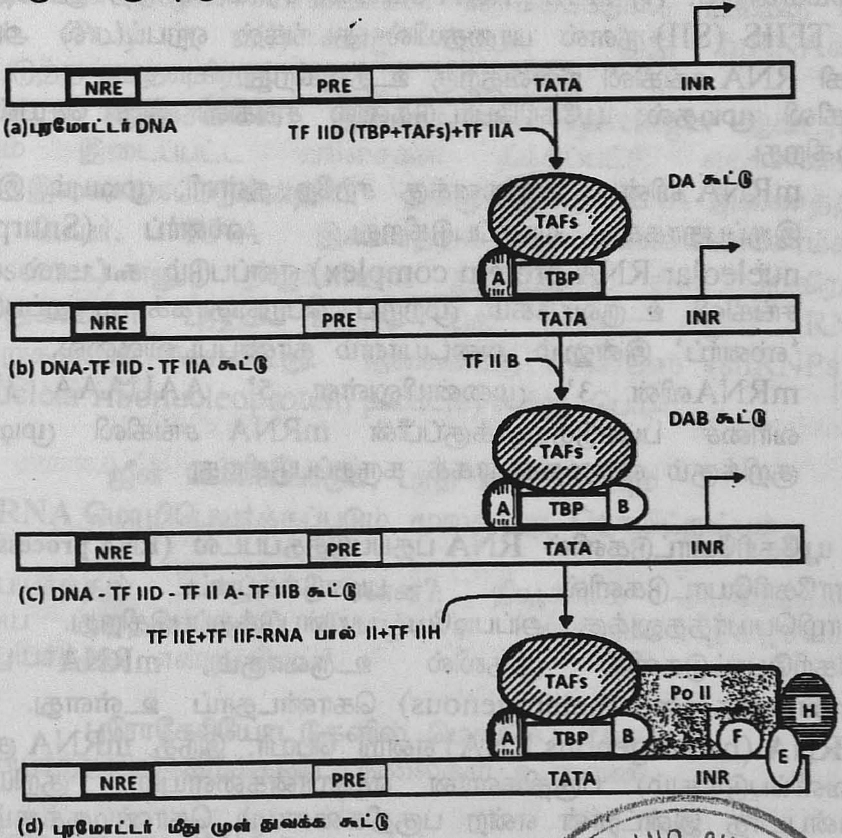
நொதி	படி எடுக்கப்படும் ஜீன்கள்	புரமோட்டர் வரிசை (கள்)	நியுக்ளியேஷன் காரணி(கள்)	RNAPயை புரமோட்டருடன் இணைக்கும் காரணி	RNAP இணைந்தபின் தேவைப்படும் காரணி
1. RNAP I	rRNA ஜீன்கள்	UCE மையப் பகுதி	UBF+ TAFs	TBP+ TAFs	எதுவும் இல்லை
2. RNAP II	(a)புரதத்தைக் குறிக்கும் ஜீன்கள்	i)TATA பெட்டி	TBP+ TAFII	TFIIB,TFII F	TFIIE TFIIH
	(b)sn RNAs	ii)DPE iii)Inr,TATA பெட்டி iv) BRE	TATAIBP +TAFII IBP + TAFs SNAPc		
3.RNAP III	(a)5S RNA ஜீன்கள் (b) tRNA (c)U6 sn RNA ஜீன்கள்	C பெட்டி A,B பெட்டிகள் TATA, PSE, OCT	FFIIA TFIIIC TBP, SNAPc	TFIIB	எதுவும் இல்லை.

RNAP II உடன் முன்துவக்ககூட்டு உருவாதலும், சங்கிலித் துவக்கமும்

பொதுவான ஜீன்களான பராமரிக்கும் ஜீன்களுக்கான (house keeping genes) புரோமோட்டர், இனத்துக்குரிய (generic) புரோமோட்டர் எனப்படுகிறது. இந்த இனத்துக்குரிய புரோமோட்டரின் RNAP II இணைந்து படிஎடுத்தல் துவங்குவதற்கு அடிப்படை (basal) படிஎடுத்தல் என்று பெயர். இதற்கு பல GTF காரணிகள் (generic transcription factors) தேவை. சங்கிலி துவக்கம் கீழ்க்கண்ட நிலைகளில் நடைபெறுகிறது (படம் 6.13.).

i) TFIIB காரணி TATA பெட்டியில் இணைகிறது. (நியூக்ளியேஷன்)

ii) அடுத்த நிலையில், இது TFIIA சேர்வதை அனுமதிக்கிறது. இப்பொது TFIIDயும், TFIIAயும் DNAவுடன் நிலையாக இணைந்து DNA-TFIID-TFIIA கூட்டு அல்லது D-A கூட்டை உருவாக்குகிறது.



படம் 6.13. ஒரு படி எடுத்தல் கூட்டு உருவாகும் விதம்

iii) பின்பு TFIIB இணைந்து DNA-TFIID- TFIIA-TFIIB கூட்டு அல்லது DAB கூட்டு உருவாகிறது. இது மேலும் நிலையானது.

iv) இப்போது RNAP புரோமோட்டர் இடத்துடன் இணைகிறது. இவ்வாறு TFIIB, புரோமோட்டருக்கும் RNAP IIக்கும் இடையே ஒரு இணைப்பை உண்டாக்குகிறது.

v) RNAP II, புரோமோட்டருடன் TFIIFஆல் இணைந்து ஒரு படிஎடுத்தல் கூட்டை உருவாக்குகிறது.

vi) பின் TFIIE, TFIIH, TFIIJ ஆகியவை சேர்கின்றன. இப்போது சங்கிலி துவங்குகிறது.

சங்கிலி நீளல்

சங்கிலி நீள்வதற்கு இரு நீளல் காரணிகள் காரணமாக அமைகின்றன. (i) TFIIF, RNA சங்கிலி சீராக வளரத் தூண்டுகிறது. (ii) TFIIS (SII) நீளல் பாதையில் தடங்கல் ஏற்பட்டால் அவற்றை நீக்கி RNA சங்கிலி நீள்வதற்கு உதவுகிறது.

சங்கிலி முடிதல்: யூகேரியோட்டுகளில் சங்கிலி இரு செயல்களால் முடிகிறது.

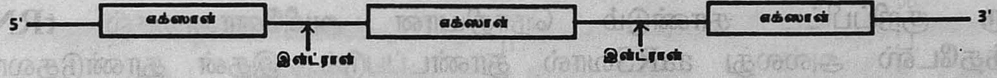
i) mRNA வின் 3' முனைக்கு சற்றே தள்ளி, முடியும் இடங்கள் இருப்பதாகக் கருதப்படுகிறது. **ஸ்னர்ப்** (Snurp-Small nucleolar RNA protein complex) எனப்படும் கூட்டால் mRNA சங்கிலி உருவாக்கம் முற்றுப் பெறுவதாகக் கருதப்படுகிறது. 'ஸ்னர்ப்' இன்னும் அடையாளம் காணப்படவில்லை.

ii) mRNAவின் 3' முனையிலுள்ள 5' AAUAAA 3' என்ற வரிசை படிஎடுத்தலுக்குப்பின் mRNA சங்கிலி முடிவதைக் குறிக்கும் சைகைகளாகக் கருதப்படுகிறது.

யூகேரியோட்டுகளில் RNA பதப்படுத்தப்படல் (RNA processing)

புரோகேரியோட்டுகளில் படிஎடுக்கப்பட்ட mRNA மொழிபெயர்த்தலுக்கு அப்படியே பயன்படுத்தப்படுகிறது. ஆனால் யூகேரியோட்டுகளில் முதலில் உருவாகும் mRNA பல்வேறு முரண்கூறுகளை (heterogenous) கொண்டதாய் உள்ளது. இதற்கு **hnRNA** (heterogenous RNA) என்று பெயர். இந்த mRNA குறியீட்டு (வெளிப்படுத்தும்) பகுதிகளான **எக்ஸான்**களையும் குறியீட்டுக்கு பயன்படாத **இன்ட்ரான்** என்ற பகுதிகளையும் கொண்டிருக்கும் (படம்

6.14.).



படம் 6.14. ஒரு hn RNA மூலக்கூறு

இந்த mRNA 3 விதமான மாற்றங்களை அடைந்து மொழிபெயர்க்கப் பயன்படும் mRNAவாக மாறும். இந்நிகழ்வுக்கு RNA பதப்படுத்தப்படல் என்று பெயர்.

5' மற்றும் 3' முனையில் மாற்றங்கள்: hn mRNAவின் 5' முனையில் மாற்றமடைந்த குவானோசைன் சேர்க்கப்படும். இதற்கு 'தொப்பி' (cap) என்று பெயர். ரிபோசோமுடன் இணைந்து புரத உற்பத்தி துவக்க, இந்த 5'தொப்பி அவசியம். 3'முனை எக்ஸோநியூக்ளியேஸ் நொதியில் கரைக்கப்பட்டு, அம்முனையில் பல அடினைன் நியூக்ளியோடைட்கள் சேர்க்கப்படும். இதற்கு பல A வால் (Poly A tail) என்று பெயர். இது mRNAவை நிலைப்படுத்த உதவுகிறது.

இடைப்பட்ட வரிசைகளை இணைத்தல் (splicing): இன்ட்ரான் எனப்படும் இடைப்பட்ட வரிசைகள் நீக்கப்பட்டு எக்ஸான்கள் ஒன்றாக இணைக்கப்படுகின்றன. இம்முறைக்கு RNA இணைத்தல் என்று பெயர். RNA இணைத்தல் **ஸ்ப்லைசியோசோம்கள்** (spliceosomes) எனும் நியூக்ளியஸ் துகள்களில் நடைபெறுகிறது. இந்த துகள்கள் புரதம் மற்றும் பல விசேட சிறிய RNA மூலக்கூறுகளைக் கொண்டது. இவைகட்கு ஸ்னர்ப்ஸ் (snRNPs) – small nuclear ribonucleoprotein particle) என்று பெயர்.

ஜீன் வெளிப்பாடும், புரத உற்பத்தியும்

mRNA மொழிபெயர்க்கப்படும் மூலக்கூறு தொழிட்நுட்பம்

மொழிபெயர்த்தல் என்றால் என்ன?: நியூக்ளிக் அமிலங்களின் மொழியை புரதங்களின் மொழியாக மாற்றும் நிகழ்ச்சிக்கு **மொழிபெயர்த்தல்** என்று பெயர்.

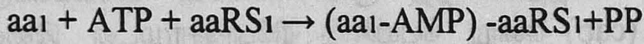
புரோகேரியோட்டுகளில் மொழிபெயர்த்தல்

மொழிபெயர்த்தலில் கீழ்க்கண்ட நிலைகள் உள்ளன.

1. அமினோஅசைல் tRNA உருவாதல்.
2. புரத உற்பத்தி துவக்கம்.
3. பாலிபெப்டைட் சங்கிலி நீளல்.
4. பாலிபெப்டைட் சங்கிலி முடிதல்.

1. **அமினோஅசைல் tRNA உருவாக்கம்:** இதில் 2 நிலைகள் உள்ளன.

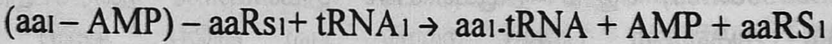
(i)அமினோ அமிலம் தூண்டப்படல்: ஒவ்வொரு அமினோ அமிலமும் ஒரு குறிப்பிட்ட தூண்டும் நொதியான **அமினோஅசைல் tRNA சிந்தடேஸ்** அல்லது aaRSவால் தூண்டப்படும். இதன் தூண்டுதலால் அமினோஅமிலம் ATPயுடன் இணைகிறது. ATPயின் α-பாஸ்பேட்டிற்கும் அமினோ அமிலத்தின் கார்பாக்ஸைல் தொகுதிக்கும் இடையே உயர்சக்தி இணைப்பு ஏற்படுகிறது. ATPயின் β மற்றும் γ பாஸ்பேட்டுகள் கனிம பைரோபாஸ்பேட்டுகளாக (PPi) சிதைந்து வெளியேறுகிறது. இதன் விளைவாக அமினோஅசைல் - AMP - aaRs கூட்டு உருவாகிறது.



$$aa_1 + ATP + aaRS_1 \rightarrow (aa_1\text{-}AMP)\text{-}aaRS_1 + PP$$

பொதுவாக ஒவ்வொரு அமினோஅமிலத்தைத் தூண்ட ஒரு குறிப்பிட்ட நொதி பயன்படும். மேலே உள்ள சமன்பாட்டில் 1 எனக் குறிப்பிட்டது அதையே குறிக்கும்.

(ii)அமினோ அமிலம் tRNAவுக்கு மாற்றப்படல்: மேலே விவரித்தபடி உண்டான 'அமினோஅசைல் AMP – நொதி' கூட்டு ஒரு குறிப்பிட்ட RNAவுடன் வினையில் ஈடுபட்டு, அமினோ அமிலத்தை tRNAவுக்கு மாற்றுகிறது. இந்த வினையின் முடிவில் AMPயும் நொதியும் விடுவிக்கப்படுகின்றன.



$$(aa_1 - AMP) - aaRs_1 + tRNA_1 \rightarrow aa_1\text{-}tRNA + AMP + aaRS_1$$

ஒவ்வொரு tRNAவும் அது எந்த அமினோஅமிலத்துடன் இணைகிறதோ, அதை வைத்தே பெயரிடப்படுகிறது. உதாரணமாக tRNA val என்பது வாலைனுடன் இணையும் tRNAவைக் குறிக்கும்.

2. **புரத உற்பத்தி துவக்கம்:** முதல் இரு அமினோஅமிலங்கட்கு இடையே பெப்டைட் இணைப்பு ஏற்படும் முன்னரே நடைபெறும் வினைகள் துவக்கத்தைக் குறிக்கும். இந்நிலையில் mRNAவுடன் ரிபோசோம் இணைந்து 'துவக்கக்கூட்டு' உருவாகிறது. இதில் முதல் அமினோஅசைல் tRNA காணப்படும்.

துவக்கக் காரணிகள்: புரத உற்பத்தி துவக்கத்திற்கு IF–1, IF–2, IF–3 என்ற 3 காரணிகள் தேவை. அவை ரிபோசோமின் 30S சிற்றலகில் காணப்படுகிறது. IF–1 மற்றும் IF–2 ஆகியவை துவக்க tRNAயை 30S ரிபோசோம் சிற்றலகுடன் இணைக்கத்தேவை. IF–3, 30S

ரிபோசோம் சிற்றலகு mRNAவின் துவக்க கோடானுடன் இணையத்தேவை.

பார்மைல்-மெதியோனைல்-$tRNA_f^{met}$ ($f\text{-}met - tRNA_f^{met}$) உருவாதல்:

பாலிபெப்டைட் சங்கிலி துவக்கம் எப்போதுமே மிதியோனின் அமினோ அமிலத்துடன் துவங்கும். புரோகேரியோட்டுகளில் மிதியோனின் ஒரு பார்மைல் தொகுதியை (-CHO) கொண்டிருக்கும். ஆகவே இது N-பார்மைல் மிதியோனின் எனப்படும்.

இந்த N-பார்மைல் (-CHO) தொகுதி, மிதியோனினின் அமினோ தொகுதியுடன் சேர்க்கப்பட்டு N-பார்மைல் மிதியோனைல்-$tRNA_f^{met}$ ஆக மாறுகிறது. இந்த வினையை டிரான்ஸ்பார்மைலேஸ் என்ற நொதி, பார்மைல்-டெட்ரா ஹைட்ரோபோலிக் அமிலத்தின் முன்னிலையில் நடத்துகிறது. இந்த அமிலம் பார்மைல் தொகுதியை வழங்குகிறது

$$tRNA_f^{met} + \text{பார்மைல் டெட்ரா-ஹைட்ரோபோலிக் அமிலம்} \xrightarrow{\text{டிரான்ஸ்பார்மைலேஸ்}} f^{met}\, tRNA_f^{met}$$

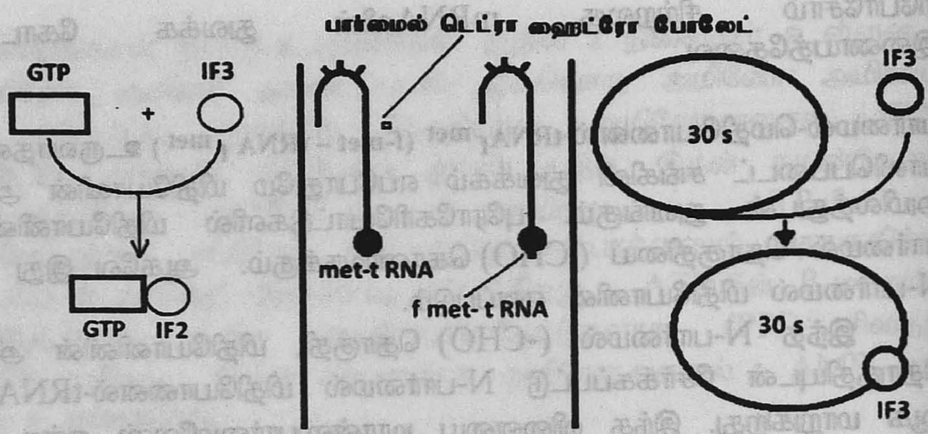
30S துவக்க கூட்டு உருவாதல்

புரத உற்பத்தியில் ஈடுபட்டு mRNAவிலிருந்து ரிபோசோம்கள் இறுதியாக 70S அலகுகளாக விடுவிக்கப்படும். இத்துகள்கள் 30Sமற்றும் 50S எனும் சிற்றலகுகளாக துவக்க காரணி 3(IF_3) ஆல் பிளக்கப்படுகிறது. பின் IF3, 30S சிற்றலகுடன் இணைந்து பின் mRNAவுடன் இனணயத் தயாராகிறது.

$$70S \xrightarrow{IF3} 50S + 30S$$

$$30S + IF_3 \longrightarrow IF_3\text{-}30S.$$

அதே சமயம்,IF_2, GTPயுடன் இணைந்து GTP-IF_2 கூட்டு உருவாகிறது. துவக்க tRNA மிதைல் தொகுதியைப் பெறுகிறது. இம்மூன்று நிகழ்வுகளும் படம் 6.15.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது.



படம் 6.15. 30s துவக்க கூட்டு உருவாதல்

புரத உற்பத்தியில் முதல் நிலை, 30S துவக்க கூட்டு உருவாவதுதான். இக்கூட்டில் mRNA, 30S ரிபோசோம் சிற்றலகு, துவக்க tRNA, GTP மற்றும் IF_1, IF_2, IF_3 ஆகிய 3 துவக்கக் காரணிகள் அடக்கம்.

mRNA-30S சிற்றலகு கூட்டு உருவாக்கம்: mRNA 30S ரிபோசோம் சிற்றலகுடன் இணைந்து ஒரு mRNA-30S கூட்டு உருவாகிறது. இதற்கு IF–3 தேவை.

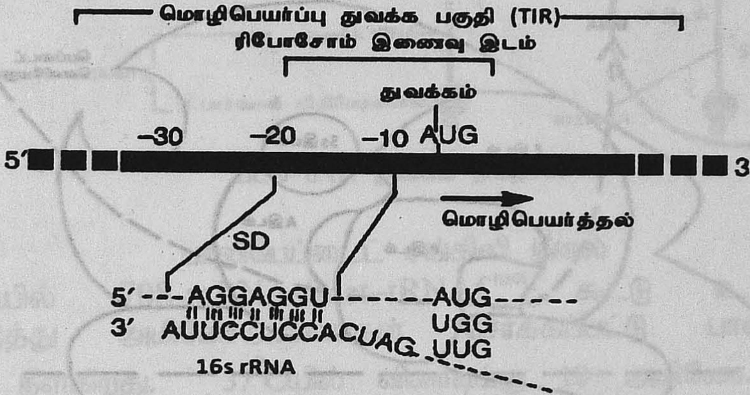


IF3 – 30s + mRNA ⟶ mRNA. IF_3 30S கூட்டு.

mRNA இணைவில் 16S tRNA பங்கேற்கிறது. **ஷைன் மற்றும் டால்கார்னோ** ஆகியோர் 16S tRNA பேஸின் 3' முனைக்கு அருகே உள்ள ஒரு நியூக்ளியோடைட் வரிசை, mRNAவில் காணப்படும் ஒரு பூர்த்தி செய்யும் வரிசையான் ,**ஷைன் - டால்கார்னோ வரிசையுடன்** (mRNAவின் SD பகுதி) நேரிடையாக இணைவதைக் கண்டறிந்தனர். துவக்க கோடானான AUG அல்லது GUG அல்லது UUGக்கு முன்பாக SD வரிசையில் அனைத்து பலபியூரின் வரிசையான 5' ---- AGGAGG --- 3' காணப்படும். rRNAவில் இவ்வரிசையைப் பூர்த்தி செய்யும் பலபைரிமிடின் வரிசையான 3' ---- UCCUCC ---- 5' காணப்படும். இவற்றிற்கு இடையே ஹைட்ரஜன் பிணைப்பு ஏற்படுகிறது. இது சங்கிலி துவக்கத்திற்கான அடையாளம் காணும் வரிசையின் ஒரு பகுதியாகும்.

SD பகுதி என்பது ரிபோசோம் இணையுமிடத்தின் (RBS) ஒரு பகுதியாகும். RBS என்பதே மொழிபெயர்ப்பு துவக்கப் பகுதி (TIR-

Translation Initiation Region) எனும் ஒரு நீண்ட பகுதியின், சிறு பகுதியாகும். TIR, ரிபோசோமுடன் இணைய உதவும். மேலுமிது துவக்க கோடானில் பார்மைல் மிதியோனில் tRNAவை ஏற்றுக் கொள்கிறது. இந்த பல்வேறு இடங்கள் படம் 6.16.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது.



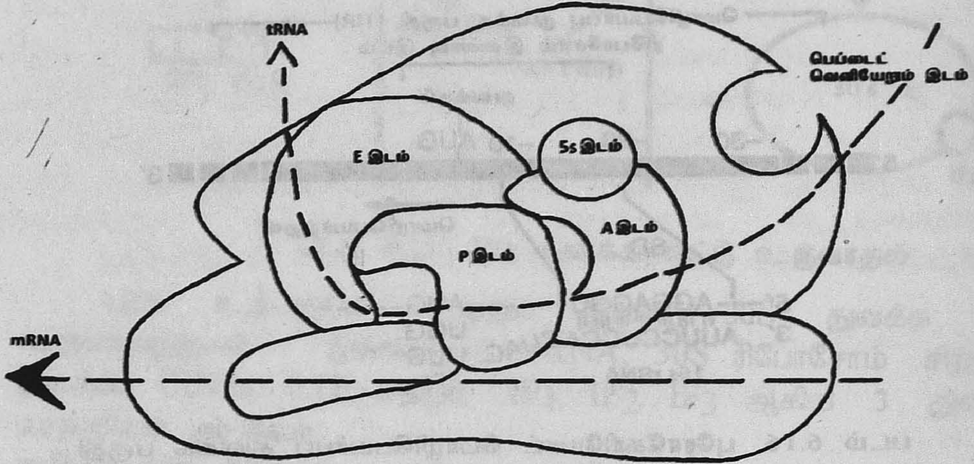
படம் 6.16. புரோகேரியோட் மொழிபெயர்ப்பு துவக்க பகுதி

f met – tRNA, mRNA – 30S கூட்டுடன் இணைதல்: IF_2, IF_1, GTP ஆகியவற்றின் உதவி, fmet-tRNA கூட்டு mRNA-30S சிற்றலகு கூட்டுடன் இணையத் தேவை. N–பார்மைல் மிதியோனின் இணைந்த UAC எனும் எதிர் கோடான் கொண்ட துவக்க tRNA, mRNAவின் AUG என்ற கோடானுடன் இணைகிறது (அரிதாக சில சமயம் AUGக்குப் பதில் GUG அல்லது UUGயுடன் இணையும்). இக்கோடான்கள் **துவக்க கோடான்கள்** எனப்படும். mRNAவில் பல AUG கோடான்கள் காணப்பட்டாலும் ஒன்றே ஒன்று மாத்திரம்தான் துவக்க கோடனாகப் பணியாற்றும்.

எக்காரணிகள் ஒரு குறிப்பிட்ட AUG கோடானை மாத்திரம் துவக்க கோடனாகத் தீர்மானிக்கிறது என்பது குறித்து இரு கருத்துக்கள் உள்ளன.

1. ஒரு குறிப்பிட்ட வரிசையில் நியூக்ளியோடைட்கள் ஒரு AUG அருகே காணப்பட்டால் அந்த AUG துவக்கக் கோடனாக இருக்கும்.
2. tRNAவின் குறிப்பிட்ட உருவ அமைப்பு குறிப்பிட்ட AUG கோடானை மாத்திரமே அடையாளம் காணும், மற்ற AUGக்களை அல்ல.

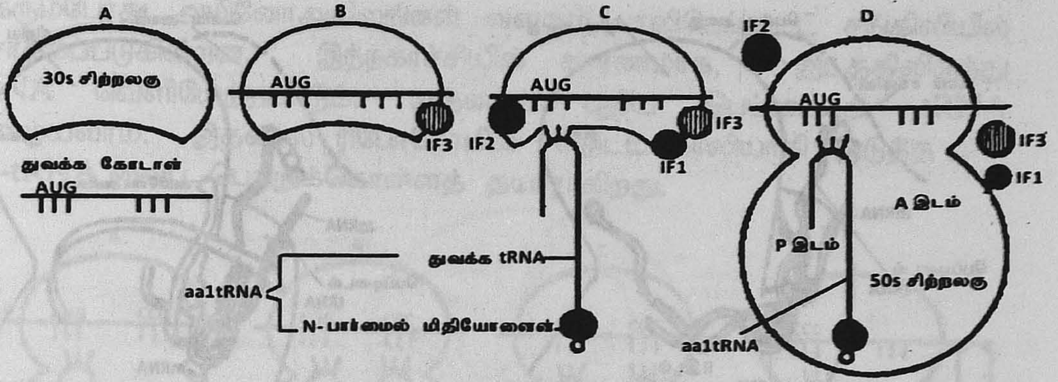
70S துவக்க கூட்டை உருவாக்க 50S சிற்றலகு இணைதல்: பெரிய 50S ரிபோசோம் சிற்றலகு, பின் 30S சிற்றலகுடன் இணைந்து முழு 70S துவக்க கூட்டு உருவாகிறது. இந்நிகழ்வில் GTP, GDP மற்றும் Pi ஆக மாற்றப்பட்டு, IF–1, IF–2 ஆகிய துவக்க காரணிகள் மறுசுழற்சிக்கு விடுபடுகின்றன.



படம் 6.17. 70s முழுகூட்டில் காணப்படும் இடங்கள்

70S ரிபோசோமில் காணப்படும் முக்கிய இடங்களாவன: (1) P இடம் (2) A இடம் (3) E இடம் (4) EF–Tu மற்றும் EF-G இணையுமிடங்கள் (5) பெப்டைடல் டிரான்ஸ்பரேஸ் இடம் (6) mRNA இணையுமிடம். இந்த இடங்கள் அமைந்திருப்பதைப் படம் 6.17. காட்டுகிறது. A மற்றும் P இடங்கட்கு மேலாக பெப்டைடல் டிரான்ஸ்பரேஸ் இடம் நீண்டு காணப்படும். A மற்றும் P இடங்களின் அடியில் EF—TU/G காணப்படும்.

துவக்க நிகழ்ச்சி முழுவதும் படம் 6.18.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது.



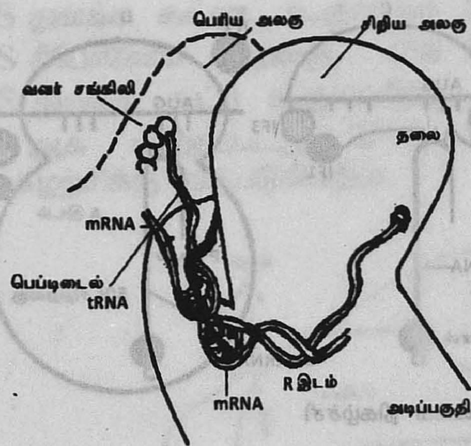
படம் 6.18. துவக்க நிகழ்ச்சி

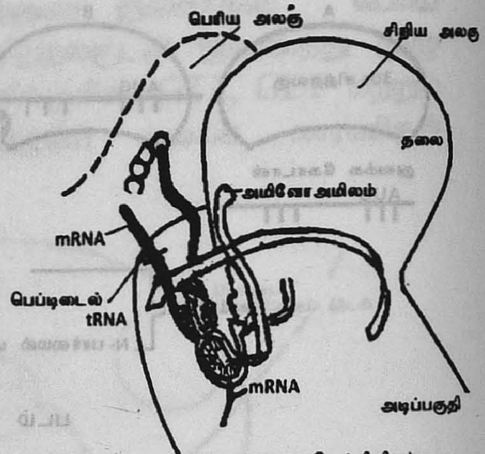
பாலிபெப்டைட் சங்கிலி நீளல்

எ.கோலியில் 70S-mRNA-fmet–tRNAf^{met} கூட்டு உருவானபின், அடுத்தடுத்து அமினோஅமிலங்கள் சேர்க்கப்பட்டு பாலிபெப்டைட் சங்கிலி நீள்கிறது. 37^{o}Cயில் வினாடிக்கு 10 அமினோஅமிலங்கள் சேர்க்கப்படுகின்றன. சங்கிலி நீட்சிக்கு நீள்காரணிகள் (EF) பல தேவை. குறிப்பாக EF-T மற்றும் EF-G. EF-Tயில் EF-Tu (வெப்பத்தால் பாதிக்கப்படுபவை), EF–Ts (வெப்பத்தில் நிலையானவை) என்ற இரு புரதங்கள் கொண்டிருக்கும். EF-Tu, EF-Ts ஆகியவை அமினோ அசைல் tRNA, ரிபோசோமுடன் இணையத்தேவை. mRNAவின் இடப்பெயர்ச்சிக்கு EF–G தேவை. பாலிபெப்டைட் சங்கிலி நீளல், 3 நிலைகளில் நடைபெறும்.

1) ரிபோசோமின் 'A' இடத்தில் Aa – tRNA இணைதல்: ஒவ்வொரு ரிபோசோமிலும் 'A' (அமினோஅசைல் இடம்) 'P' (பெப்டைடல் இடம்) 'E' (வெளியேறும் இடம்) என்ற 3 குழிகள் (cavities) உள்ளன. f-met-tRNA f^{met} 'P' இடத்தில் நுழைகிறதா அல்லது 'A' இடத்தில் நுழைகிறதா என்பது சரியாகத் தெரியவில்லை. இருப்பினும் இறுதியில் அது 'P' இடத்தில் காணப்படும். இப்போது அடுத்த aa-tRNAவைப் பெற்றுக் கொள்ள 'A' இடம் தயாராகிவிடுகிறது.

தற்கால ஆய்வு, ரிபோசோமின் சிற்றலகில் மற்றொரு இடமான 'R' இடம் இருப்பதை வெளிப்படுத்தி உள்ளது. மொழிபெயர்த்தல் மிகச்சரியாக நடைபெற 'R' இடம் உதவுவதாகக் கண்டறியப்பட்டுள்ளது. aa-tRNA முதலில் R இடத்தில் கோடான்-எதிர் கோடான் இணைப்பில் ஈடுபடுவதாகத் தெரிகிறது. பின் GTP மூலக்கூறிலிருந்து சக்தியை எடுத்துக் கொண்டு aa-tRNAவுக்கு சுண்டி செலுத்தப்படுகிறது (flipping) (படம் 6.19.).





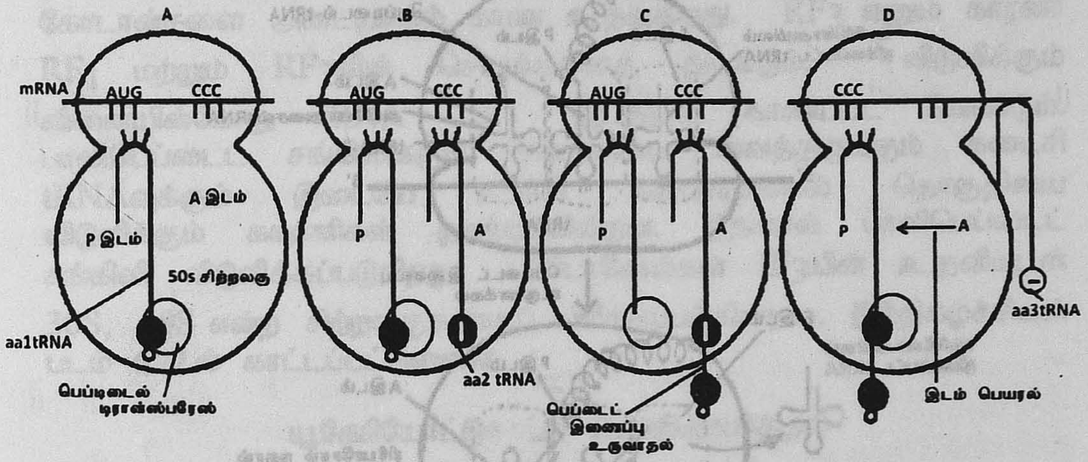
படம் 6.19. சங்கிலி நீளல் நிலைகள்

இவ்வாறு செலுத்தப்படும்போது tRNA, கோடான்-எதிர்கோடான் இணைவால் மாத்திரமே இணைந்துள்ளது. தவறான tRNAவாலோ, தவறான இணைப்பாலோ, இந்த கோடான் எதிர்கோடான் இணைப்பு இருந்தால் அது பலவீனமாகி ரிபோசோமிலிருந்து தூக்கி எறியப்படும். ஆகவே 'R' இடம் ஒரு சரிசெய்யும் இடமாக அமைந்துள்ளது. இவ்வாறாக அடுத்த aa-tRNA 'A' இடத்தில் நுழைகிறது. அப்படி நுழைய EF-Tu, EF-Ts க்கள் உதவுகின்றன.

பெப்டைட் இணைப்பு உருவாதல்: P இடத்தில் உள்ள பெப்டைடல் tRNAவின் பாலிபெப்டைடின் தனித்த கார்பாக்ஸைல் தொகுதிக்கும் (-COOH), A இடத்தில் உள்ள அமினோஅசைல்-tRNAவின் அமினோஅமிலத்தின் தனித்த அமினோ தொகுதிக்கும் ($-NH_2$) இடையே பெப்டைட் இணைப்பு உருவாகிறது. இதற்கு பெப்டைட்ல் டிரான்ஸ்பரேஸ் உதவுகிறது. இது 50S சிற்றலகில் காணப்படும். பெப்டைட் இணைப்பு உருவானபின் 'P' இடத்தில் உள்ள tRNAவில் அசிட்டைல் பகுதி நீக்கப்படுகிறது. 'A' இடத்தில் காணப்படும் tRNA இப்போது பாலிபெப்டைடைக் கொண்டிருக்கும். இந்நிகழ்வுகள் யாவும் படம் 6.20.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது.

இடம்பெயரல் (translocation): mRNA மீது ரிபோசோம் 5'–3' முனையில் நகர்வது **இடம்பெயரல்** எனப்படும். ஒவ்வொரு மூன்று நியூக்ளியோடைட்களாக (கோடான்) mRNA மீது ரிபோசோம்

நகரும்போது அமினோஅமிலங்கள் வளரும் பாலிபெப்டைட் சங்கிலியில் சேர்க்கப்படுகின்றன. இந்நகர்ச்சியின் காரணமாக, P இடத்திலிருந்து tRNA வெளியேற்றப்படும். அதனால் புதிய பெப்டைடல் tRNA நுழையலாம். இதனால் ரிபோசோமில் A இடம் காலியாகி அடுத்த aa-tRNA வைப் பெற்றுக்கொள்ளத் தயாராகிறது.



படம் 6.20. பெப்டைட் இணைப்பு உருவாதல்

A இடத்திலிருந்து P இடத்திற்கு aa-tRNA நகர்வதற்கு GTP மூலக்கூறும், EF-G என்ற நீள் காரணியும் தேவை. பணி முடித்த tRNA ரிபோசோமின் E இடம் மூலம் வெளியேற்றப்படுகிறது.

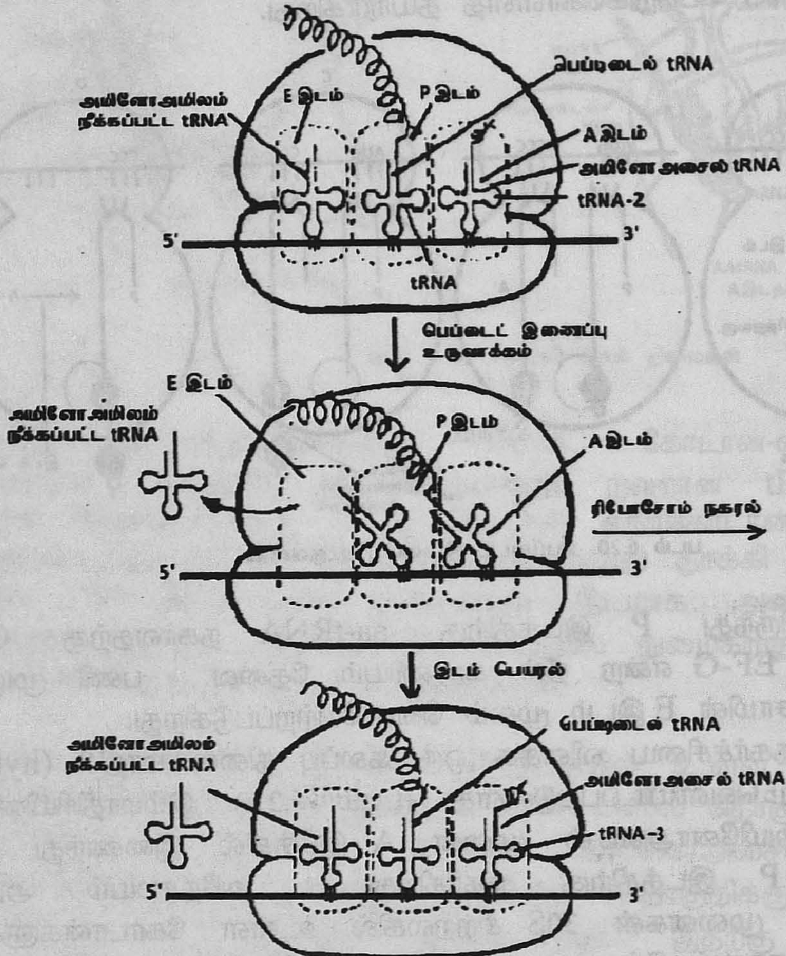
tRNA நகர்ச்சியை விளக்க ஒரு கலப்பு நிலை மாதிரி (hybrid states model) வெளியிடப்பட்டுள்ளது (படம் 6.21.). இம்மாதிரியின்படி, tRNAவின் அமினோஅசைல் முனை A இடத்தில் இணைந்து 50S சிற்றலகின் P இடத்திற்கு நகர்கிறது. அதேசமயம் அதன் எதிர்கோடான் முனைகள் 30S சிற்றலகில் உள்ள கோடான்களுடன் இணைந்து காணப்படும். ஆகவே இந்நிலையில் tRNAக்கள் 50SE/30SP மற்றும் 50SP/30SA இடங்கள் எனும் இருகலப்பு இடங்களில் இணைந்து காணப்படும். இடப்பெயர்ச்சியின் பின்நிலையில் tRNA எதிர்கோடான் முனை A இடத்திலிருந்து P இடத்திற்கு நகர்ந்து, எதிர்கோடான்-கோடான் இணைவு சரியாய் அமைகிறது.

இந்த கலப்புநிலை உருவாவதற்கு இரு காரணங்கள் இருக்கலாம்.

(1) *tRNA ரிபோசோம் மீது நகரல்:* இங்கு tRNAவின் அமினோ அசைல் முனை 50S சிற்றலகிற்குள்ளேயே நகர்கிறது. இடப்பெயர்ச்சி நடைபெறும்போது எதிர்கோடான் நகரும்.

(2) *முழு 50S அலகு 30S அலகின் மீது நகர்தல்:* அதாவது 50S மற்றும் 30S சிற்றலகுகள் ஒரே சமயத்தில் நகராமல் மாற்றி மாற்றி நகர்தல்.

இடப்பெயர்ச்சிக்கு EF-G எனும் காரணியும் GTPயும் தேவை.



படம் 6.21. கலப்பு நிலை மாதிரி

mRNA இழையின் 80 நியூக்ளியோடைட்களை (கோடான்கள்) தாண்டி, ரிபோசோம் வந்ததுமே, mRNA இழையுடன் ரிபோசோம் இணையும். அதே mRNA இழையை பயன்படுத்தி இரண்டாவது ரிபோசோம் ஒரே மாதிரியான பாலிபெப்டைட் சங்கிலியை உருவாக்கும். இம்முறையில் பல ரிபோசோம்கள் (polyribosomes) mRNA இழையுடன் இணைந்து காணப்படும்.

சங்கிலி முடிதல்

UAA (அக்கர்) UAG (ஆம்பர்) UGA (ஓபல்) எனும் 3 முடிவு கோடான்களில் ஏதாவது ஒன்று பாலிபெப்டைட் சங்கிலியை முடிக்கும்

சைகைகளாகும். இவைகள் 'பொருளற்ற (nonsense) கோடான்கள்' எனப்படும். ஏனெனில் இவற்றுடன் எந்த ஒரு tRNAவின் எதிர்கோடானும் இணைவதில்லை. இந்த முடிவு கோடான்களை RF_1 மற்றும் RF_2 எனும் விடுவிக்கும் காரணிகளில் (release factors) எதாவது ஒன்று அடையாளம் காண்கிறது. அவை ரிபோசோமை இந்த கோடான்களை அடையாளம் காண உதவுகிறது. RF_3 எனும் காரணி RF_1 மற்றும் RF_2வின் செயல்களைத் தூண்டும். விடுவிக்கும் வினையின்போது tRNA 'P' இடத்தில் காணப்பட வேண்டும். பாலிபெப்டைட் சங்கிலிக்கும், சங்கிலியை வைத்திருக்கும் கடைசி tRNAவுக்கும் இடையே உள்ள கார்பாக்ஸைல் தொகுதியை விடுவிக்கும் காரணிகள் துண்டிக்கின்றன. இதனால் பாலிபெப்டைட் சங்கிலி விடுவிக்கப்படுகிறது. ரிபோசோம்கள் IF_3யின் உதவியுடன் 30S, 50S என்ற சிற்றலகுகளாகப் பிரிக்கப்படுகின்றன. இந்நிகழ்ச்சிகள் படம் 6.22.ல் காட்டப்பட்டுள்ளன.

யூகேரியோட்டுகளில் மொழிபெயர்த்தல்

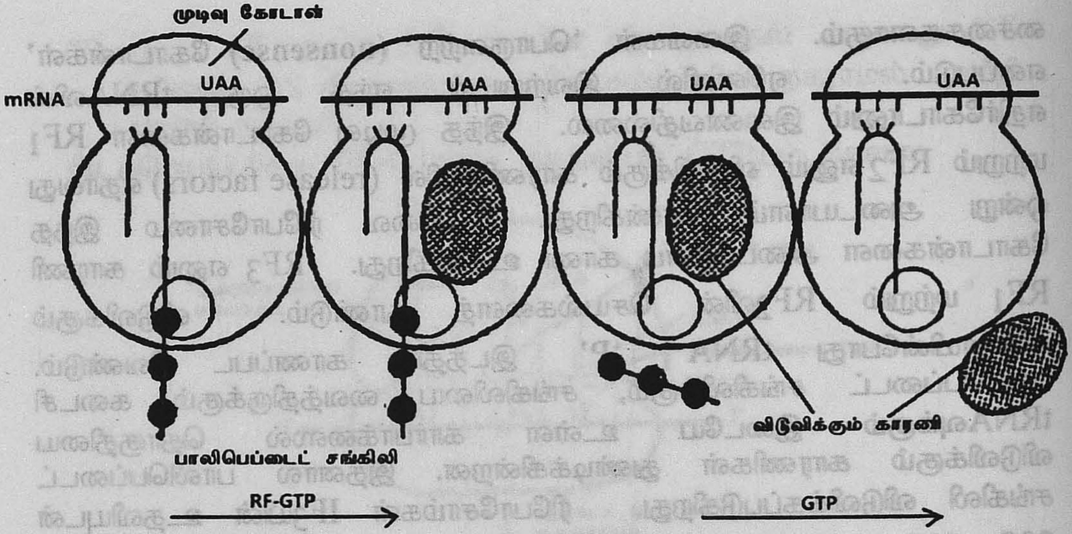
சங்கிலி துவக்கம்: கீழ்க்கண்ட வேறுபாடுகளைத்தவிர யூகேரியோட்டுகளில் சங்கிலி துவக்கம் புரோகேரியோட்டுகளை ஒத்துள்ளன.

(i) யூகேரியோட்டுகளில் பல துவக்கக் காரணிகள் உள்ளன. இரத்த சிகப்பணுக்களில் 12க்கும் மேற்பட்ட காரணிகள் கண்டுபிடிக்கப்பட்டுள்ளன. யூகேரியோட்டுகளை குறிக்க அவை 'e' என்ற எழுத்தில் துவங்கி பெயரிடப்பட்டுள்ளது. அவைகளில் சில:

eIF1, eIF1A, eIF2, eIF2B , eIF2C, eIF3, eIF3A, eIF4A, Ded1, eIFB, eIF4E, eIF4F, eIF4G, eIF4H, eIF5, eIF5B.

(ii) யூகேரியோட்டுகளில் மிதியோனினுடன் பார்மைல் தொகுதி சேர்வதில்லை.

(iii) யூகேரியோட்டுகளில் 40S ரிபோசோம் சிற்றலகு துவக்க tRNA வான $tRNA\ i^{met}$ உடன் இணையும். தற்கால ஆய்வின்படி கீழ்கண்ட நிலைகள் சங்கிலி துவக்கத்தில் உள்ளன. (படம் 6.23.).



படம் 6.22. சங்கிலி முடிதல்

1. eIF2. **GTP.met-tRNAi^{met} முக்கூட்டு(ternary) அமைப்பு உருவாதல்:** முதலில் eIF2 காரணி GTPயுடன் இணைந்து இரட்டை (binary) கூட்டு உருவாகி, அது met – tRNA i^{met} உடன் இணைந்து முக்கூட்டு அமைப்பு உருவாகிறது. மொழிபெயர்த்தல் துவங்கியபின் இக்கூட்டு சிதைந்து eIF2-GPP வெளியேற்றப்படுகிறது.

2.43S கூட்டு உருவாதல்: மேலே கூறிய முக்கூட்டு 40S ரிபோசோம் சிற்றலகுடன் சேர்ந்து 43S கூட்டு உருவாகிறது. இதற்க eIF1, eIF1A, eIF3 உதவுகின்றன.

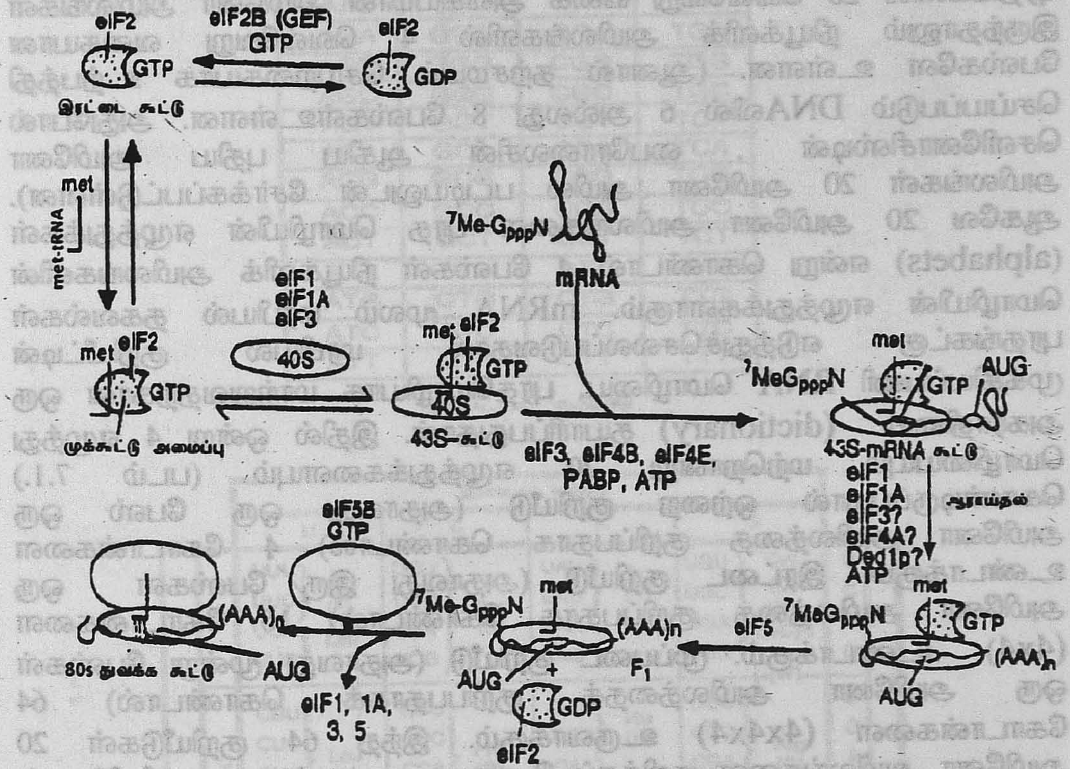
3.43S கூட்டில் mRNA இணைதல்: பல eIFs காரணிகள், PABP புரதம், ATP ஆகியவற்றின் உதவியால் mRNA 43S கூட்டில் இணைகிறது.

4.mRNAவை ஆராய்தல் (scanning): mRNAவின் 5'முனையில் இணைந்த 43S, mRNA மீது நகர்ந்து துவக்க கோடான் எங்குள்ளது என ஆராய்கிறது. அதற்கு **கோஸாக்** (Kozak, 1983) **கோட்பாடு** என்று பெயர். இதற்கு ATP, eIFE4F தேவை.

5.AUG கோடான் எதிர்-கோடான் இணைதல்: 43S கூட்டு mRNAவின் முதல் AUG கோடானை கண்டறிந்தபின் முதல் tRNAவின் ஆண்டிகோடானுக்கும் mRNAவின் கோடனுக்கும் இடையே இணைப்பு ஏற்படுகிறது. இதற்கு eIF1 தேவை.

6. **GTP சிதைவு மற்றும் met t-RNA met, P இடத்திற்கு மாற்றப்படல்:** eIF_2 எனும் காரணி GTPase தூண்டு புரதத்தின் உதவியால் GTPயை

சிதைக்கிறது. இதனால் eIF2 – GDP, met-tRNAi^{met} ஐ 40S சிற்றலகின் P இடத்திற்கு விடுவிக்கிறது.



படம் 6.23. யூகேரியோட்டுகளில் சங்கிலி துவக்கம்

7. 60S ரிபோசோம் சிற்றலகு இணைதல்: இப்போது 60S சிற்றலகு 40S -met – t-RNA i^{met} – mRNA கூட்டுடன் இணைகிறது.

மேலே விவரித்த நிகழ்வுகள் இரத்த சிவப்பணுக்களில் நடைபெறுகிறது. மற்ற யூகேரியோட்டுகளில் இந்நிகழ்வுகளில் மாற்றம் காணப்படலாம்.

சங்கிலி நீளல்: eEF1, eEF2 ஆகிய நீளல் காரணிகள் உதவியுடன் அமினோஅமிலங்கள் அடுத்தடுத்து சேர்க்கப்பட்டு சங்கிலி நீள்கிறது.

சங்கிலி முடிதல்: eRF1 எனும் காரணி முடிக்கும் கோடான்களை அடையாளம் கண்டுபிடித்து சங்கிலியின் வளர்ச்சியை முடித்து வைக்கிறது.

7. மரபியல் குறியீடு (Genetic Code)



mRNAவில் உள்ள பேஸ்களின் வரிசைக்கும், புரதத்திலுள்ள அமினோஅமிலங்களின் வரிசைக்கும் உள்ள உறவை வரையறுப்பதுதான் மரபியல் குறியீடு.

நியூக்ளிக் அமிலங்களிலுள்ள மரபியல் தகவல்கள் பெரும்பாலும் புரத உற்பத்திமூலம் வெளிப்படுகின்றன. புரதங்களில் 20 வெவ்வேறு வகை அவசியமான அமினோ அமிலங்கள் இருந்தாலும் நியூக்ளிக் அமிலங்களில் 4 வெவ்வேறு வகையான பேஸ்களே உள்ளன. (ஆனால் தற்சமயம் செயற்கையாக உற்பத்தி செய்யப்படும் DNAவில் 6 அல்லது 8 பேஸ்கள்உள்ளன. அதுபோல் செளினோசிஸ்டின் , பைரோலைசின் ஆகிய புதிய அமினோ அமிலங்கள் 20 அமினோ அமில பட்டியலுடன் சேர்க்கப்பட்டுள்ளன). ஆகவே 20 அமினோ அமிலங்களை புரத மொழியின் எழுத்துக்கள் (alphabets) என்று கொண்டால் 4 பேஸ்கள் நியூக்ளிக் அமிலங்களின் மொழியின் எழுத்துக்களாகும். mRNA மூலம் மரபியல் தகவல்கள் புரதங்கட்கு எடுத்துச்செல்லப்படுவதால், மரபியல் குறியீட்டின் முக்கியப்பணி RNA மொழியை, புரதமொழியாக மாற்றுவதற்கான ஒரு அகராதியை (dictionary) தயாரிப்பதுதான். இதில் ஒன்று 4 எழுத்து மொழியையும் மற்றொன்று 20 எழுத்துக்களையும் (படம் 7.1.) கொண்டிருப்பதால் ஒற்றை குறியீடு (அதாவது ஒரு பேஸ் ஒரு அமினோ அமிலத்தை குறிப்பதாக கொண்டால்) 4 கோடான்களை உண்டாக்கும். இரட்டை குறியீடு (அதாவது இரு பேஸ்கள் ஒரு அமினோ அமிலத்தை குறிப்பதாக கொண்டால்) 16 கோடான்களை (4x4) உண்டாக்கும். முப்படை குறியீடு (அதாவது மூன்று பேஸ்கள் ஒரு அமினோ அமிலத்தைக் குறிப்பதாகக் கொண்டால்) 64 கோடான்களை (4x4x4) உருவாக்கும். இந்த 64 குறியீடுகள் 20 அமினோ அமிலங்களை குறிக்கப் போதுமானது. முப்படை குறியீடுதான் மரபியல் குறியீடு என்று காமோ (Gamow) நிருபித்தார்.

கோடான்கள் எப்போது கண்டுபிடிக்கப்பட்டன?

நிரன்பர்க் மற்றும் மத்தாய் (Nirenberg, Matthaei) (1961) நடத்திய செல்வெளி (in vitro experiments) சோதனைகள் மரபியல் குறியீட்டை முதலில் அறிய உதவியது. அவர்கள் செயற்கையாக தயாரித்த பல ரிபோ-நியுக்ளியோடைடுகளை செயற்கை RNAவாக பயன்படுத்தி, பாலிபெப்டைட் சங்கிலிகளில் அமினோ அமிலத்தை சேர்த்தனர். முதலில் பல யுரிடிலிக் அமிலத்தை (பல U) பயன்படுத்தி பல பினைல் அலனைன்களை உருவாக்கினார். பினைல் அலனைனை UUU குறிப்பதை அறிந்தனர். இதுபோல் பல கோடான்கள் குறிக்கும் ,

ஒற்றை குறியீடு
A
G
C
T

இரட்டை குறியீடு

AA	AG	AC	AT
GA	GG	GC	GT
CA	CG	CC	CT
TA	TG	TC	TT

AAA	GAA	CAA	TAA
AAG	GAG	CAG	TAG
AAC	GAC	CAC	TAC
AAT	GAT	CAT	TAT
AGA	GGA	CGA	TGA
AGG	GGG	CGG	TGG
AGC	GGC	CGC	TGC
AGT	GGT	CGT	TCT
ACA	GCA	CCA	TCA
ACG	GCG	CCG	TCG
ACC	GCC	CCC	TCC
ACT	GCT	CCT	TCT
ATA	GTA	CTA	TTA
ATG	GTG	CTG	TTG
ATC	GTC	CTC	TTC
ATT	GTT	CTT	TTT

முப்பட்டை குறியீடு

முதல் எழுத்து	இரண்டாம் எழுத்து: U	C	A	G	இறுதி எழுத்து
U	UUU, UUC } Phe (F) UUA, UUG } Leu (L)	UCU, UCC, UCA, UCG } Ser (S)	UAU, UAC } Tyr (Y) UAA stop UAG stop	UGU, UGC } Cys (C) UGA stop } SeCys UGG Trp (W)	U C A G
C	CUU, CUC, CUA, CUG } Leu (L)	CCU, CCC, CCA, CCG } Pro (P)	CAU, CAC } His (H) CAA, CAG } Gln (Q)	CGU, CGC, CGA, CGG } Arg (R)	U C A G
A	AUU, AUC, AUA } Leu (L) AUG* Met (M)	ACU, ACC, ACA, ACG } Thr (T)	AAU, AAC } Asn (N) AAA, AAG } Lys (K)	AGU, AGC } Ser (S) AGA, AGG } Arg (R)	U C A G
G	GUU, GUC, GUA, GUG* } Val (V)	GCU, GCC, GCA, GCG } Ala (A)	GAU, GAC } Asp (D) GAA, GAG } glu (E)	GGU, GGC, GGA, GGG } Gly (G)	U C A G

படம் 7.1 மரபியல் குறியீடு

அமினோ அமிலங்கள் கண்டுபிடிக்கப்பட்டன. கொரானாவும் (Khorana) தன் ஆராய்ச்சி மூலம் குறியீடுகளை கண்டுபிடித்து உதவினார்.

மரபியல் குறியீட்டின் பண்புகள்

1. **தெளிவானது** (unambiguity) : ஒரு குறியீடு ஒரு குறிப்பிட்ட அமினோ அமிலத்தை மாத்திரமே குறிக்கும். மற்ற எந்த அமினோ அமிலத்தையும் பெப்டைட் சங்கிலியில் சேர்க்காது.
2. **ஒன்றன் மேல் ஒன்று ஏறாதது** (non overlapping): இவை ஒன்றன்மேல் ஒன்று அமையாமல் ஒவ்வொன்றும் தனியான 3 பேஸ்களைக் கொண்டிருக்கும். அதாவது ஒரு பேஸ் அடுத்து வரும் பேஸ்கட்கு பொதுவாய் இருப்பதில்லை.
3. **உலகப் பொதுவானது:** (globally common): அனைத்து உயிரினங்களிலும் குறிப்பிட்ட குறியீடு குறிப்பிட்ட அமினோ அமிலத்தையே குறிக்கும். அதாவது குறியீடு பரிணாமம் அடையவில்லை, நிலையாக உள்ளது என கருதப்படுகிறது. இதற்கு **'உறை விபத்து கோட்பாடு'** (frozen accident theory) என்று பெயர். யூகேரியோட்டுகளின் நியூக்ளியஸிலுள்ள ஜீன்களில் 8 கோடான்கள், மைட்டோகாண்டிரியாவிலுள்ள 16 கோடான்கள், ஏற்கனவே கண்டுபிடிக்கப்பட்ட அடிப்படை மரபியல் குறியீடுகளில் எந்தெந்த அமினோ அமிலத்தைக் குறிக்கும் என கண்டுபிடிக்கப்பட்டதோ, அந்த அமினோ அமிலங்களைத் தவிர மற்ற அமினோ அமிலங்களை குறிப்பதாய் சமீபத்தில் கண்டுபிடிக்கப்பட்டுள்ளது.
4. **குறியீடு, நிறுத்தக்குறியீடு அற்றது** (punctuation) : குறியீடு தொடர்ந்து வரிசையாய் காணப்படும். அவைகட்கு நிறுத்தக்குறியீடுபோல ஒரு நியூக்ளியோடைட் நடுவில் காணப்படுவது இல்லை. அதாவது ஒரு கோடானின் கடைசி நியூக்ளியோடைடுக்கு அடுத்து, அடுத்த கோடானின் முதல் நியூக்ளியோடைட் காணப்படும்.
5. **டிஜெனரசி (சிதைவு)** (degeneracy) : 61 கோடான்கள் 20 அமினோ அமிலங்களைக் குறிக்கின்றன. இதற்கு **சிதைவு** என்று (degeneracy) பெயர். மிதியோனின் மற்றும் டிரிப்டோபேன் தவிர மற்ற அமினோஅமிலங்கள் பல கோடான்களால் குறிக்கப்படுகின்றன. இவ்வகை கோடான்களில் முதல் 2 பேஸ்கள் பொதுவாய் இருக்கும். மூன்றாவது பேஸ் மாத்திரம் மாறுபட்டு இருக்கும். இந்த கடைசி இடத்தில் குறிப்பிடும் தன்மை (specificity) குறைவாய் இருப்பதற்கு **பிறழ்ச்சி** (wobble) என்று பெயர். இந்த கடைசி பேஸ்

பிறழ்ச்சி பேஸ் எனப்படுகிறது. இந்த டீஜெனரசியால் கீழ்கண்ட பயன்கள் உள்ளன.

1. தீடீர்மாற்றத்தின் விளைவைக் குறைக்கிறது
2. அதிக மரபியற் நிலை தன்மையைத் தருகிறது
3. மற்றொரு அமினோ அமிலத்தால் மாற்றப்படும் வாய்ப்பை குறைக்கிறது.

6. **துவக்க மற்றும் முடிக்கும் கோடான்கள்:** 64 கோடான்களில் AUG பாலிபெப்டைட் சங்கிலியைத் துவக்கும் கோடானாகவும் (இது மிதியோனினைக் குறிக்கும்), AUG UAA,UAG ஆகியவை புரத உற்பத்தியை முடிக்க உதவும் கோடானாகவும் பணியாற்றுகிறது.

பிறழ்ச்சிக் கோட்பாடு (Wobble hypothesis): ஒரு கோடானின் குறியீட்டுத்தன்மை முதலிரண்டு பேஸ்களால் மட்டுமே தீர்மானிக்கப்படுகிறன. மூன்றாவது பேஸ் அவ்வளவு முக்கியமில்லை எனக் கருதப்பட்டது. உதாரணமாக ஒரே tRNA மூன்றாவது இடத்தில் மட்டுமே வேறுபடும் இரு கோடான்களை அடையாளம் காண்கிறது. ஆகவே இந்த இணைவு நிலையற்றது. மூன்றாவது இடத்தில் பேஸ் இணைவது பிறழ்ச்சி உள்ளதாய் கருதப்பட்டது. கிரிக் (1965) ஒரு எதிர் கோடானின் மூன்றாவது பேஸான G என்பது U அல்லது Cயுடன் இணையும் என்றும், ஒரு U என்பது A அல்லது Gயுடன் இணையும் என்றும் I (இனோசின்) என்பது U, C அல்லது Aயுடன் இணையலாம் என்றும் கண்டுபிடித்தார். இதன் மூலம் மொழிபெயர்ப்புக்குக் குறைந்த அளவு tRNAக்களே தேவை என அறியலாம். 1982ல் குத்ரி மற்றும் ஏபல்சன் (Guthrie and Abelson) 46 வகை tRNAக்கள் எல்லா புரத யூகேரியோட்டுகளிலும் இருப்பதாகவும் கண்டனர்.

இரண்டாம் மரபியல் குறியீடு (second genetic code) (மரபியல் குறியீட்டின் இரண்டாம் பாகம் (second half of genetic code): அமினோஅசைல் சிந்தடேஸ் (aaRSs) நொதி, தமது tRNA - மூலக்கூறுகளை அமினோ அசைல் செய்வதற்காக அடையாளம் காண்பது இரண்டாம் மரபியல் குறியீடு எனப்படுகிறது. 'புரத மடிப்பு' அல்லது புரதத்தின் முப்பரிமாண அமைப்பை உருவாக்கப் பயன்படும் அடிப்படை விதிகள் மரபியல் குறியீட்டின் இரண்டாம் பாகம் எனப்படுகிறது.

8. ஜீன் ஒழுங்குபாடின் மூலக்கூறு உயிரியல்: புரோகேரியோட்டுகள் மற்றும் யூகேரியோட்டுகளில்
(Molecular Biology of Gene Regulation: Prokaryotes and Eukaryotes)





ஜீன்கள் உற்பத்திசெய்யும் பொருட்களைக் கட்டுப்படுத்தும் செயல்முறைக்கு **ஜீன் ஒழுங்குபாடு** என்று பெயர். ஒரு உயிரியின் பல்வேறு ஜீன்கள் பல்வேறு புரதங்களை உற்பத்தி செய்யும். ஒரே உயிரியிலேயோ, ஒரு செல்லுக்குள்ளோ அல்லது வெவ்வேறு செல்லுக்குள்ளோ,ஒரே சமயம் அனைத்து புரதங்களும் தேவைப்படாது. குறிப்பிட்ட சில நொதிகள் குறிப்பிட்ட சமயங்களில் மாத்திரமே தேவைப்படலாம். ஆனால் ஒரு உயிரியின் வாழ்வில் அனைத்து செல்களிலும் அனைத்து ஜீன்களுமே காணப்படும். ஆகவே ஒரு ஒழுங்குபாட்டின் மூலமே சில ஜீன்களை சிலசமயம் பணியில் ஈடுபடுத்தவும், சில சமயம் பணியாற்றாமல் இருக்கவும் செய்ய முடியும். இவ்வாறு ஜீன் வெளிப்பாட்டை கட்டுப்படுத்த பல்வேறு நிலைகளில் பல முறைகள் உள்ளன. அவை படிஎடுத்தல் நிலை, mRNA பதப்படுத்தல் நிலை மற்றும் மொழி பெயர்த்தல் நிலை. புரோகேரியோட்டுகளிலும், யூகேரியோட்டுகளிலும் ஜீன் வெளிப்பாட்டின் ஒழுங்குபாடு முறைகள் வேறுபடும். இரு வகையான ஜீன் ஒழுங்குபாடுகள் உள்ளன.

(1) மறைமுக ஒழுங்குபாடு (Negative regulation)

(2) நேர்முக ஒழுங்குபாடு (Positive regulation)

மறைமுக ஒழுங்குபாடு

இதில் ஜீன்கள் எப்போதும் 'இயங்கு' (on) நிலையில் இருக்கும் (படம் 8.1.).படிஎடுத்தல் நிறுத்தப்படவேண்டுமெனில் ஒரு **'ரிப்ரஸர்'** (repressor-அழுத்தும்), புரதம் படிஎடுத்தல் துவங்குமிடத்திற்கு முன்னதாக உள்ள மேலோட்ட DNAவுடன் இணைந்து ஜீனை 'இயங்கா' (off) நிலைக்குக் கொண்டுவரும். இதனால் படிஎடுத்தல் நின்று விடும். மறைமுக ஒழுங்குபாடு இருவகைப்படும்:

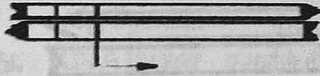
(1) தூண்டு (inducible) ஒழுங்குபாடு

(2) அழுத்தும் (repressive) ஒழுங்குபாடு

தூண்டு படிஎடுத்தலில் (படம் 8.1.b) DNAவுடன் இணையும் ஒரு ரிப்ரஸர் புரதம் பொதுவாய் படிஎடுத்தலை 'இயங்கா' நிலையில் வைத்திருக்கும். **தூண்டி** (inducer) எனப்படும் ஒரு சிறு மூலக்கூறு இருந்தால், அத்துடன் ரிப்ரஸர் இணைந்து, அந்த ரிப்ரஸர் DNAவுடன்

இணையும் திறனை இழந்துவிடும்படி செய்கிறது. இதனால் படிஎடுத்தல் நடைபெறும்.

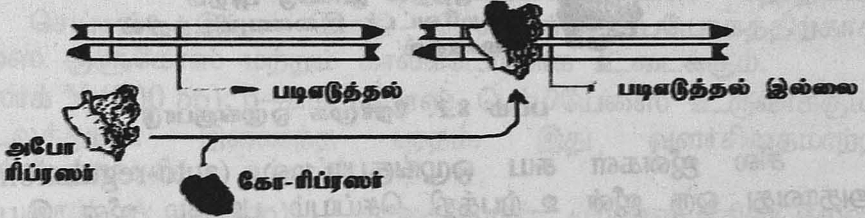
(A) படிஎடுத்தலின் மறைமுக ஒழுங்குபாடு



(B) தூண்டு படிஎடுத்தல்



(C) அழுத்தும் படிஎடுத்தல்



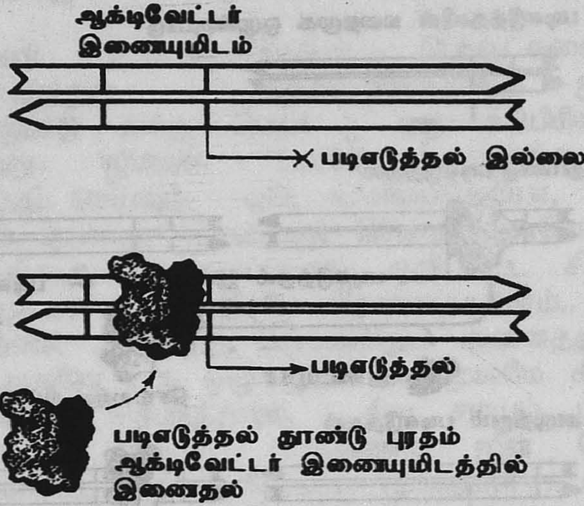
படம் 8.1. மறைமுக ஒழுங்குபாடு

அழுத்தும் படிஎடுத்தலில் (படம்8.1.c), பொதுவாய் ஜீன் ‘இயங்கு’நிலையில் இருக்கும். இதில் ஒழுங்குபடுத்தும் புரதம் அபோரிப்ரஸர் (aprorepressor) எனப்படும். இதற்கு தானே DNAவுடன் இணையும் திறன் இல்லை. அதனால் படிஎடுத்தல் நடைபெறும் கோ-ரிப்ரஸர் (co-repressor) எனும் ஒரு சிறு மூலக்கூறு அபோரிப்ரஸருடன் இணையும்போது அது ‘செயல்படும் ரிப்ரஸராக’ (active repressor) மாறி DNAவுடன் இணையும். இதனால் படிஎடுத்தல் நின்றுவிடும்.

நேர்முக ஒழுங்குபாடு

இதில் ஜீன்கள் எப்போதும் ‘இயங்கா’ (off) நிலையில் இருக்கும்(படம் 8.2.). ஒரு ஒழுங்குபடுத்தும் புரதம் இணைந்தால்தான் ஜீன் ‘இயங்கு’(on) நிலைக்கு வரும். இந்த ஒழுங்குபடுத்தும் புரதத்திற்கு ‘படிஎடுத்தல் தூண்டு புரதம்’ (transcription activator protein) என்று பெயர். மறைமுக ஒழுங்குபாடு அதிகமாக புரோகேரியோட்டுகளிலும், நேர்முக ஒழுங்குபாடு அதிகமாக யூகேரியோட்டுகளிலும்

காணப்படுகின்றன. ஆனால் சில அமைப்பில் இவ்விரு ஒழுங்குபாடுகளுமே காணப்படும்.



படம் 8.2. நேர்முக ஒழுங்குபாடு

சில ஜீன்கள் சுய ஒழுங்குபாட்டில் (auto-regulation) ஈடுபடும். அதாவது ஒரு ஜீன் உற்பத்தி செய்யும் புரதமே ஜீன் இயக்கத்தைக் கட்டுப்படுத்தும். எ.கோலி பாக்டீரியாவில் எவ்வாறு மறைமுக ஒழுங்குபாடும், நேர்முக ஒழுங்குபாடும் செயல்படுகின்றன என்பதை இப்போது உதாரணங்களுடன் பார்க்கலாம்.

ஆபரான் மாதிரி ஜீன் ஒழுங்குபாடு
லாக் ஆபரான்: மறைமுக ஒழுங்குபாடு -தூண்டு படிஎடுத்தலுக்கு உதாரணம்
(Operon model gene regulation: lac operon)

ஜேக்கப் மற்றும் மோனாட் (Jacob and Monad) 1961ல் எ.கோலி பாக்டீரியாவில் β–காலக்டோசிடேஸ் (β-galactosidase) நொதி உற்பத்தி சம்பந்தமான 'தூண்டு முறையைப்' பற்றி அறிந்து, 'ஆபரான் மாதிரி' எனும் புகழ் பெற்ற மாதிரியை விளக்கினர். இதன்படி இரண்டு அல்லது அதற்கு மேற்பட்ட ஜீன்கள் ஒரே அலகாக இணைந்து வெளிப்படும்போது, அந்த அமைப்பு **'ஆபரான்'** எனப்படும்.

இதில் **ஆபரேட்டர் ஜீன்** மற்றும் **அமைப்பு ஜீன்கள்** இருக்கும். ஒரு ஆபரேட்டர் (operator) ஜீன் என்பது, புரத உற்பத்தியில் ஈடுபடும் பல அமைப்பு ஜீன்களை (structural genes) கட்டுப்படுத்தும். இதற்கு அர்த்தம், ஆபரேட்டர் ஜீனின் கட்டுப்பாட்டால் அமைப்பு ஜீன்கள் mRNAவை உற்பத்தி செய்யும் என்பதாகும். மேலும், ஆபரேட்டர்

ஜீனை ஒழுங்குபடுத்தும் ஜீன் (regulator gene) உற்பத்தி செய்யும் ஒரு 'ரிப்ரஸர்' மூலக்கூறு கட்டுப்படுத்தும். ஆபரேட்டர் ஜீன் பகுதியில் ரிப்ரஸர் இணைந்தாலும்கூட, படிஎடுத்தல் துவங்குமிடம் **புரமோட்டர் ஜீன்** (promotor gene) எனும் பகுதியாகும். இது ஆபரேட்டர் பகுதிக்கு மேலாகக் காணப்படும். RNA பாலிமரேஸ் இப்பகுதியில் இணைந்துதான் கீழ்நோக்கி நகரும். ரிப்ரஸர் ஆபரேட்டருடன் இணையும்போது, RNAPயின் நகர்ச்சியைத் தடுத்துவிடும். புரமோட்டர் பகுதி, ஆபரேட்டர் பகுதியின் மீது சிறிது மேலேறி காணப்படும்.

பார்டி, ஜேக்கப் மற்றும் மோனாட் நடத்திய **'பஜேமோ (PaJaMo-Pardee,Jacob and Monad) சோதனை'** β–காலக்டோசிடேஸ் ஜீன் வெளிப்பாடு எவ்வாறு ஒழுங்குபடுத்தப்படுகிறது என்பதை விளக்குகிறது. லாக் ஆபரானில் உள்ள லாக் ஆபரேட்டர் 26 பேஸ் இணைவிகள் கொண்டு, முதல் அமைப்பு ஜீனான லாக் Z உடன் இணைந்துள்ளது. இந்த ஆபரானில் 3 அமைப்பு ஜீன்கள் உள்ளன.

(i) ஜீன் லாக் Z (3063 bp): β– காலக்டோசிடேஸ் நொதியை உற்பத்தி செய்யும். இந்த நொதி செல்லின் உபயோகத்திற்காக லாக்டோஸை குளுகோஸ் மற்றும் காலக்டோஸாக உடைக்கும்.

(ii) ஜீன் லாக் Y (800 bp): β–காலக்டோஸ் பெர்மியேஸை உருவாக்கும். இது படலத்துடன் இணைந்த புரதம். இது வளர்சிதைமாற்ற பொருட்களின் நகர்ச்சிக்கு உதவும்.

(iii) ஜீன் லாக் A (800bp): β–காலக்டோஸ் டிரான்ஸ்அசிடைலேஸ் எனும் நொதியை உருவாக்கும். இது அசிடைல் கோ-என்ஸைம் Aயிலிருந்து அசிடைல் தொகுதியை β–காலக்டோஸைட்கட்கு மாற்றும்.

எ.கோலி லாக் ஆபரானில் (படம் 8.3.), ஜீன் லாக்I எனும் ஒழுங்குபடுத்தும் ஜீனின் செயல்பாட்டால் ஒரு ரிப்ரஸர் உருவாக்கப்படுகிறது. இந்த ரிப்ரஸர் ஆபரேட்டருடன் இணைந்து, mRNA உற்பத்தியைத் தடுக்கிறது. இப்போது லாக்டோஸ் சேர்க்கப்பட்டால் ரிப்ரஸர் செயலற்றதாகிவிடும். இதனால் அது ஆபரேட்டர் ஜீனுடன் இணைய முடியாததால் mRNA உற்பத்தி நடக்கும். லாக்டோஸ் 'தூண்டியாக' (inducer) செயல்படுகிறது. மேலோட்டப்பகுதியில் காணப்படும் ஒரு புரமோட்டர் ஜீன் ஒழுங்குபடுத்தும் ஜீனின் செயல்பாட்டைக் கட்டுப்டுத்துகிறது. இந்த புரமோட்டர் ஜீன், ஆபரானின் புரமோட்டர் ஜீனிலிருந்து வேறுபட்டது.

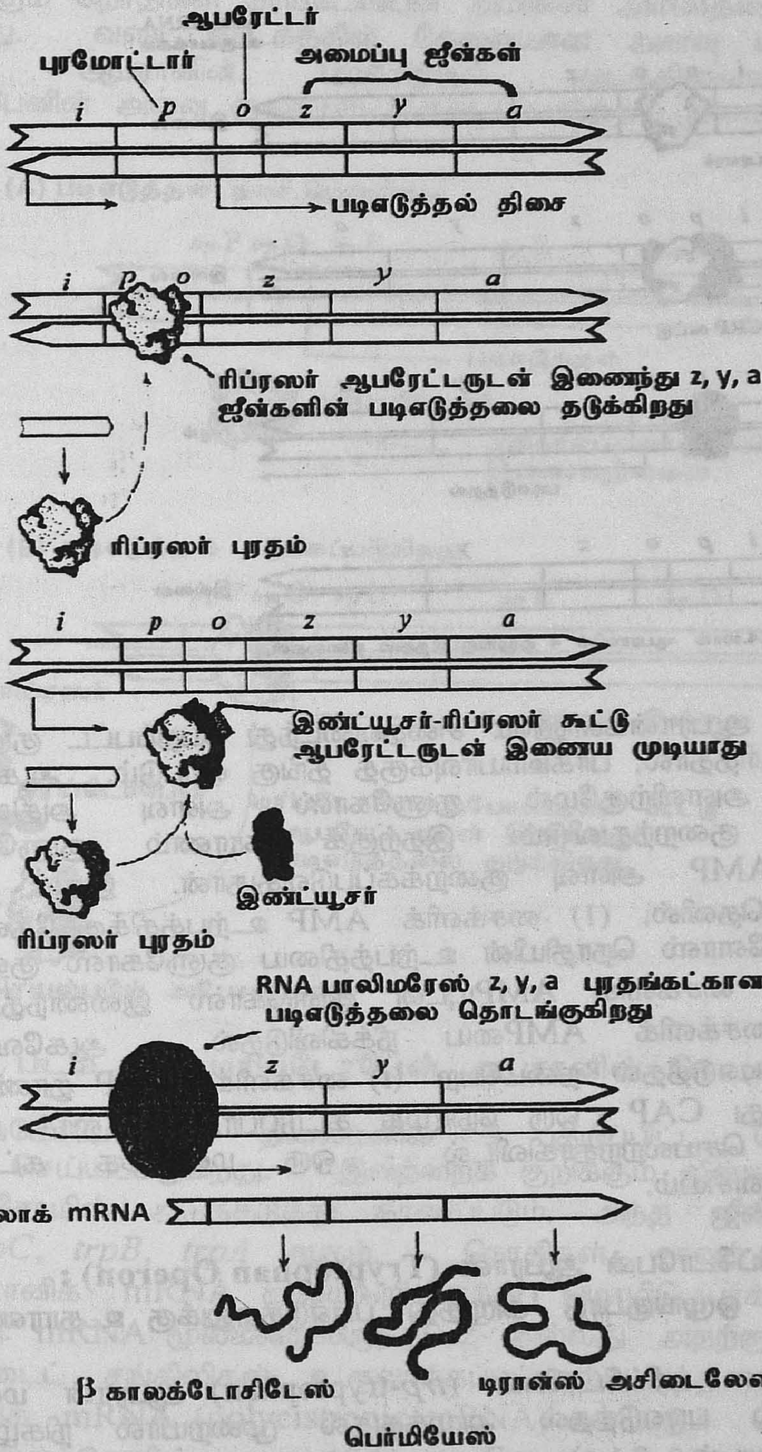
இந்த ஆபரானில், லாக்டோஸ் உண்மையான தூண்டியல்ல. அது உடைக்கப்பட்டு உருவாகும் காலக்டோஸ், அல்லோ லாக்டோஸாகவும், காலக்டோ பயோஸாகவும் மாற்றப்படும். இந்த அல்லோ லாக்டோஸ்தான் தூண்டியாக செயல்படும்.

லாக் ஆபரானின் நேர்முக ஒழுங்குபாடு:

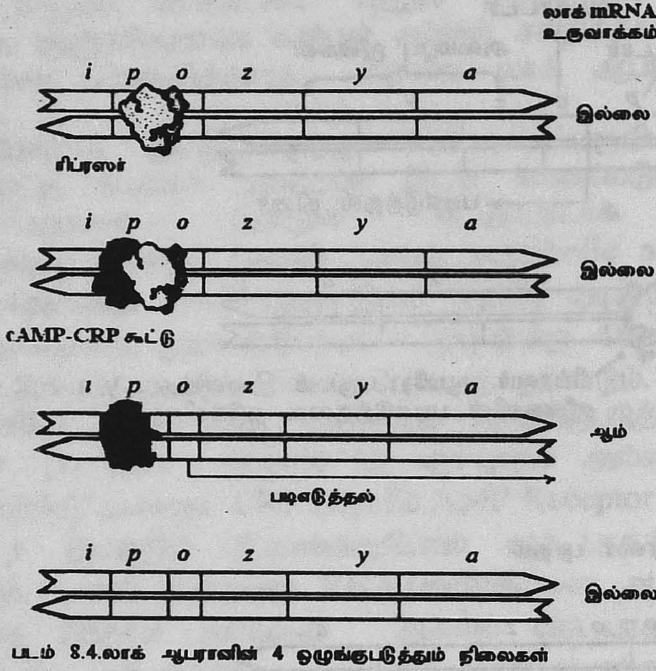
ஊடகத்தில் லாக்டோஸ் மற்றும் குளுகோஸ் காணப்பட்டால், பாக்டீரியா, குளுக்கோஸை கார்பன் மற்றும் சக்திக்காக பயன்படுத்தும், லாக்டோஸை பயன்படுத்தாது. ஆகவே லாக் ஆபரான் படிஎடுத்தல் நடக்காது.

புரமோட்டர் இடத்திலிருந்து மேலோட்டப்பகுதியில் 16 பேஸ் இணைவுகட்கு மேலாக மற்றொரு இடம் காணப்படும். இது ஜீன் வெளிப்பாட்டிற்கான நேர்முக கட்டுப்பாடாக செயலாற்றும். இவ்விடத்திற்கு சிதை தூண்டு புரதம் (catabolic activator protein) அல்லது சைக்ளிக் AMP புரத இடம் (CAP) அல்லது சிதை ஜீன் தூண்டி (catabolic gene activator – cga) என்று பெயர். இவ்விடத்தில் CAP/cga இணைந்து ஜீன் வெளிப்பாட்டைத் தூண்டும்.

ஆகவே லாக்டோஸ் ஆபரானை ஒழுங்குபடுத்த 2 புரதங்கள் உள்ளன (1) லாக் - ரிப்ரஸர் (2) cga புரதம் அல்லது CAP (Cyclic AMP Protein) அல்லது CRP (Cyclic AMP Receptor Protein). ரிப்ரஸர் ஆபரேட்டர் இடத்தில் இணைவதுபோல் cga புரதம் cga இடத்தில் இணையும். லாக் ரிப்ரஸரில் RNA பாலிமரேஸை ஆபரேட்டர் வழியாக செல்வதை ரிப்ரஸர் தடுக்கும். ஆனால் cga புரதம் ஒரு நேர்முக கட்டுப்பாட்டை ஏற்படுத்தும். சைக்ளிக் AMP மூலக்கூறு cga புரதத்தை தூண்டினால் மாத்திரமே, cga புரதம் RNA பாலிமரேஸ் இணைவதை அனுமதிக்கும். DNA மற்றும் RNA பாலிமரேஸுடன் இணைந்து செயலாற்றி, படிஎடுத்தல் துவக்கத்திற்கு உதவும் CAP புரதம் அபோ தூண்டி (apo inducer) எனப்படும். cga புரதத்தின் தூண்டுதலுக்கு சைக்ளிக் AMP அவசியம். குளுகோஸின் அளவு சைக்ளிக் AMP-cga புரத அமைப்பை பாதிக்கிறது. ஆகவே இது சில சமயம் குளுகோஸ் கூருணர் ஆபரான் (glucose sensitive operon) என்றும் அழைக்கப்படும். லாக்டோஸ், காலக்டோஸ், அராபினோஸ், மால்டோஸ் போன்றவற்றை சிதைக்கும் ஆபரான்கள் இவற்றில் அடங்கும் (படம் 8.4.).



படம் 8.3. எ.கோலியில் லாக் ஆபரான் செயல்பாடு
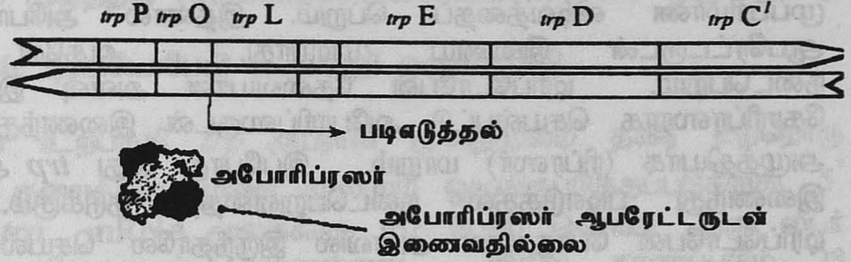


படம் 8.4.லாக் ஆபரானின் 4 ஒழுங்குபடுத்தும் நிலைகள்

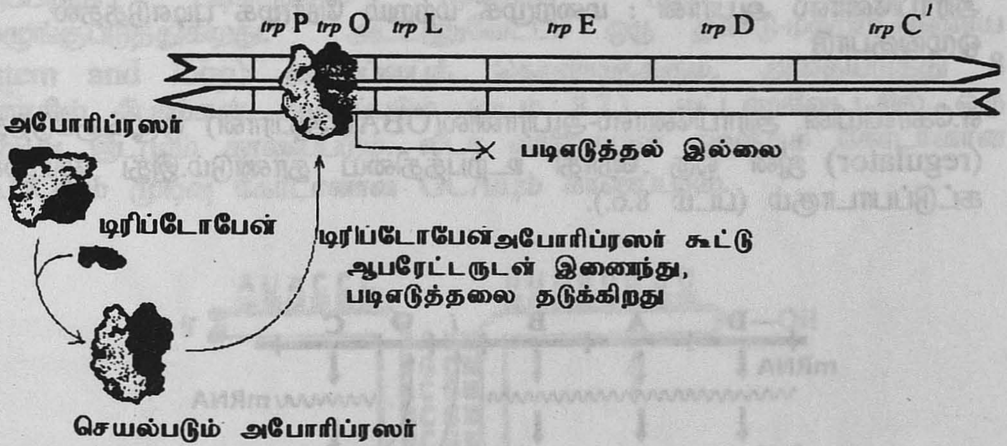
எல்லா ஆபரான்களிலுமே சிதைவடைந்து பெறப்பட்ட குளுகோஸ் அளவு அதிகரித்தால், பாக்டீரியாவுக்குத் தீங்கு ஏற்படும். ஆகவே ஒரு குறிப்பிட்ட அளவிற்குமேல் குளுகோஸ் அளவு அதிகரித்தால் படிஎடுத்தல் குறைந்துவிடும். இதற்குக் காரணம் குளுகோஸால் சைக்ளிக் AMP அளவு குறைக்கப்படுவதுதான். இது எவ்வாறு நடைபெறுகிறதெனில், (1) சைக்ளிக் AMP உற்பத்திக்கு தேவையான அடினோசைக்ளோஸ் நொதியின் உற்பத்தியை குளுகோஸ் குறைத்தல் அல்லது (2) சைக்ளிக் AMPயுடன் குளுகோஸ் இணைந்து கூட்டு உண்டாகி சைக்ளிக் AMPயை நீக்கிவிடுதல். ஆகவே லாக் ஆபரானில் படிஎடுத்தல் நடைபெற (i) சைக்ளிக் AMP தூண்டு cga புரதம் அல்லது CAP - ஒரு நேர்முக கட்டுப்பாடு (ii) லாக் ரிப்ரஸர், தூண்டியால் செயலற்றதாகிவிடல் - ஒரு மறைமுக கட்டுப்பாடு, /ஆகியவை அவசியம்.

டிரிப்டோபேன் ஆபரான் (Tryptophan Operon) : மறைமுக ஒழுங்குபாடு 'அழுத்து' படிஎடுத்தலுக்கு உதாரணம்

எ.கோலியிலுள்ள டிரிப்டோபேன் (*trp*-tryptophan) ஆபரான் மறைமுக ஒழுங்குபாட்டில் படிஎடுத்தல் அழுத்துதல் முறையால் நிகழ்வதற்கு உதாரணம் (படம் 8.1.c). *trp* ஆபரானிலுள்ள அமைப்பு ஜீன்கள்

உருவாக்கும் நொதிகள் டிரிப்டோபேன் அமினோ அமிலத்தை உற்பத்தி செய்கிறது. வளர் ஊடகத்தில் தேவையான அளவு டிரிப்டோபேன் இருப்பின் ஆபரானின் படிஎடுத்தல் அடக்கிவைககப்படுகிறது. டிரிப்டோபேனின் அளவு குறையும் போது படிஎடுத்தல் நடைபெறும்.





படம் 8.5. டிரிப்டோபேன் ஆபரானின் செயல்பாடு

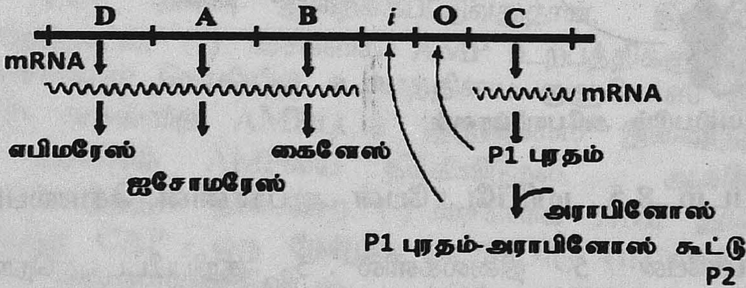
டிரிப்டோபேன் 5 நிலைகளில் 5 குறிப்பிட்ட நொதிகளால் உற்பத்தி செய்யப்படுகிறது. இவற்றைக் குறிக்கும் ஜீன்கள் எ.கோலி குரோமோசோமில் அடுத்தடுத்து காணப்படும். அந்த ஜீன்கள் *trpE*, *trpD*, *trpC*, *trpB*, *trpA* ஆகும். நொதிகள் யாவும் ஒரே ஒரு பலசிஸ்டரானிக் mRNA மூலக்கூறிலிருந்து மொழிபெயர்க்கப்படுகிறது (ஒரே ஒரு mRNA மூலக்கூறிலிருந்து 2 அல்லது அதற்கு மேற்பட்ட, பாலிபெப்டைட் சங்கிலிகள் உருவாக்கப்பட்டால் அந்த mRNA பல சிஸ்டரானிக் mRNA (polycistronic mRNA) எனப்படும். பெரும்பாலும் புரோகேரியோட்டுகளில் காணப்படும்). *trpE* எனும் குறிக்கும் பகுதிதான் முதலில் மொழிபெயர்க்கப்படும் (படம்8.5.). *trpE*யின் மேலோட்டப்

பகுதியில் புரமோட்டர், ஆபரேட்டர், லீடர் மற்றும் அட்டனுவேட்டர் (attenuator) எனும் பகுதிகள் உண்டு. அவை *trpL*, *trpA* என குறிப்பிடப்படும். அழுத்து ஜீனான *trpR*, இந்த ஆபரானை விட்டு மிகவும் தள்ளி அமைந்திருக்கும்.

trpR ஜீன் உற்பத்தி செய்வது அபோரிப்ரஸர் புரதம். போதுமான அளவு டிரிப்டோபேன் ஊடகத்தில் இல்லாதபோது அபோரிப்ரஸர் ஒரு முப்பரிமாண வடிவத்தைப் பெறும். இதனால் அபோரிப்ரஸர் *trp* ஆபரேட்டருடன் இணைய முடியாது. ஆகவே படிஎடுத்தல் நடைபெறும். டிரிப்டோபேன் தேவையான அளவு இருப்பின் அது கோரிப்ரஸராக செயல்பட்டு அபோரிப்ஸருடன் இணைந்து செயல்படும் அழுத்தியாக (ரிப்ரஸர்) மாறும். இப்போது இது *trp* ஆபரேட்டருடன் இணைந்து படிஎடுத்தல் நடைபெறுவதைத் தடுக்கும். ஆகவே டிரிப்டோபேன் போதுமான அளவில் இருந்தாலே 'செயல்படும் ரிப்ரஸர் மூலக்கூறு' உருவாகும்.

அராபினோஸ் ஆபரான் : மறைமுக மற்றும் நேர்முக படிஎடுத்தல் ஒழுங்குபாடு

எ.கோலியின் அராபினோஸ்-ஆபரானில்(OBADஆபரான்) ஒழுங்குபடுத்தும் (regulator) ஜீன் ஒரு நொதி உற்பத்தியை தூண்டும்.இது நேர்முகக் கட்டுப்பாடாகும் (படம் 8.6.).



படம் 8.6 எ.கோலியில் அராபினோஸ் ஆபரான்

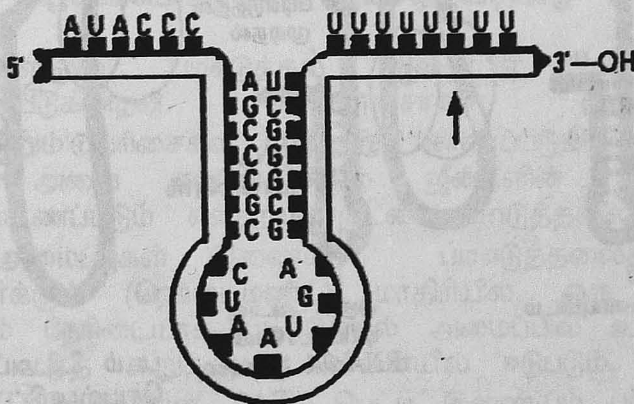
இப்படத்தில் *O*, *B* மற்றும் *A* ஆகியவை அமைப்பு ஜீன்கள், *i* என்பது துவக்க இடம், *O* ஆபரேட்டர் இடம் மற்றும் C என்பது லாக் ஆபரானிலுள்ள ஒழுங்குபடுத்தும் ஜீனுக்கு நிகரானது. ஜீன் C, P_1 எனும் புரதத்தை உண்டாக்கும். இது அராபினோஸ் இல்லாதபோது

ரிப்ரஸராக பணியாற்றும். அராபினோஸ் இருந்தால், P_1 மாற்றப்பட்டு P_2 வாக ஆகிவிடும். P_2 படிஎடுத்தலை தூண்டும். இம்முறையில் அராபினோஸ் ஆபரான் நேர்முக மற்றும் மறைமுக கட்டுப்பாடு அமைப்பாக உள்ளது.

படி எடுத்தல் முடித்தல் (transcription termination) மூலம் ஒழுங்குபாடு

1. குறைத்தல்: டிரிப்டோபேன் உற்பத்தி ஒழுங்குபாடு

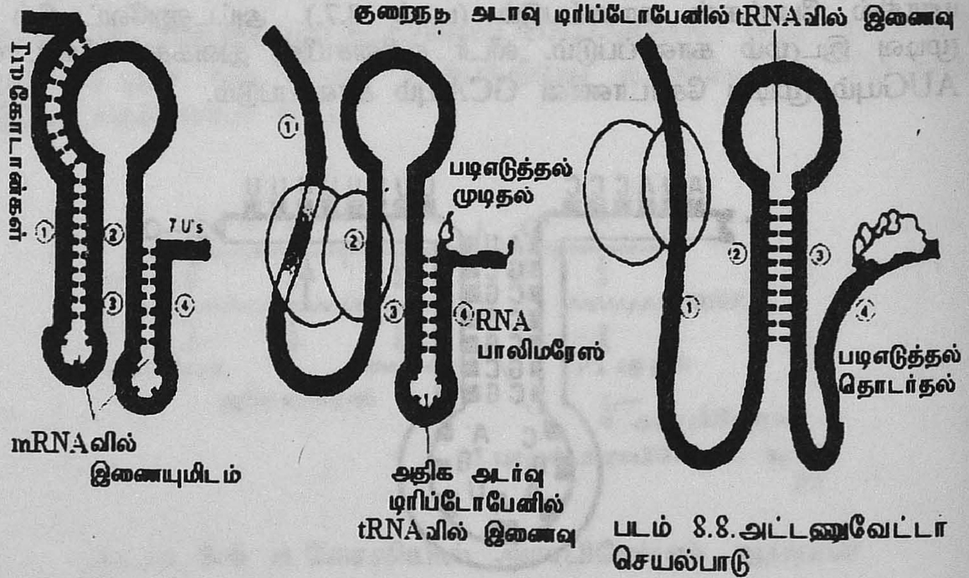
டிரிப்டோபேன் உற்பத்தி *trp* ஆபரான் முறைமூலம் தவிர மற்றொரு முறையான, குறைத்தல் முறை மூலமும் ஒழுங்குபடுத்தப்படுகிறது. 5' முனையில் *trp* , mRNA மூலக்கூறு 162 பேஸ் கொண்ட ஒரு லீடர் (தலைமை) வரிசையைப் பெற்றுள்ளது. இதில் காணப்படும் 28 பேஸ்கள் பகுதி அட்டனுவேட்டர் (குறைப்பவை) எனப்படுகிறது. இப்பகுதி படிஎடுத்தல் முடித்து, ஜீன் வெளிப்பாட்டை ஒழுங்குபடுத்துகிறது. அட்டனுவேட்டர் ஒரு தண்டு-மற்றும்-வளைய (stem and loop) அமைப்பைக் கொண்டிருக்கும். அதையடுத்து 8 யுராசில் பேஸ்கள் காணப்படும் (படம் 8.7.). அட்டனுவேட்டரில் ஒரு முடிவு இடமும் காணப்படும். லீடர் வரிசையில் துவக்கக் கோடானான AUGயும் முடிவு கோடானான GCAயும் காணப்படும்.



படம் 8.7. அட்டனுவேட்டர் அமைப்பு

குறைத்தல் தொழிட்நுட்பம் படம் 8.8.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது. படம் Aயில் லீடர் RNA மூலக்கூறு காட்டப்பட்டுள்ளது. லீடர் பாலிபெப்டைடில் இரு டிரிப்டோபேன் கோடான்கள் காணப்படும். பகுதி (2)ல் உள்ள நியூக்ளியோடைட் வரிசைகள் பகுதி (1)உடனோ

அல்லது பகுதி (3)உடனோ இணையும் திறன் கொண்டவை. பொதுவாக பகுதி (1) மற்றும் (2)டிற்கிடையே நியூக்ளியோடைட் இணைவுகள் இருக்கும். பகுதி(3) பகுதி(4) உடன் நியூக்ளியோ டைட்களால் இணைக்கப்பட்டிருக்கும். படம் 8.8.B செல்லில் போதுமான அளவு டிரிப்டோபேன் tRNA இருந்து ($tRNA^{trp}$), லீடர் பாலிபெப்டைடை மொழிபெயர்க்கும் நிலையைக் காட்டுகிறது. ரிபோசோம் *trp* கோடான்களை கடந்து பகுதி (2)ஐ அடைந்து விடுகிறது. ஆகவே நியூக்ளியோடைட் இணைவு பகுதி (3) மற்றும் பகுதி (4)க்கு மட்டுமிடையே இருக்கும். இது படிஎடுத்தல் முடிப்பவற்றை (transcription terminator) உருவாக்கி, பகுதி (4)ஐ அடுத்து காணப்படும் யுராசில் நியூக்ளியோடைட் பகுதியில் முடிவு ஏற்படுகிறது. படம் 8.8.C டிரிப்டோபேன் tRNA போதுமான அளவு இல்லாதபோது, ரிபோசோம் *trp* கோடான்களில் நிறுத்ததை ஏற்படுத்துவதால் என்ன நடக்கிறது என்பதை விளக்குகிறது. இதில் (2)ம் பகுதி (3)ம் பகுதியுடன் இணைகிறது. இதனால் டெர்மினேட்டரின் அமைப்பு சிதைக்கப்படுகிறது. ஆகவே படிஎடுத்தல் ஆபரானின் மற்ற பகுதியில் தொடர்ந்து நடைபெறுகிறது.



படம் 8.8. அட்டனுவேட்டா செயல்பாடு

2. ரிபோஸ்விட்சுகள் (Riboswitches)

மொழிபெயர்க்கப்படாத 5' லீடர் mRNA பகுதியுடன் ஒரு சிறு மூலக்கூறு இணைவதன் மூலம் படிஎடுத்தல் முடிவுக்கு வரலாம். அந்த சிறுமூலக்கூறுடன் இணைகிறதா, இல்லையா என்பதைப் பொறுத்து 5' லீடர் பகுதி எதாவது ஒரு வடிவத்தைப் பெறும். எதிர் டெர்மினேஷன் (முடிவு பெறாத) வடிவத்தில், ஜீன் படிஎடுத்தல் லீடரைக் கடந்து, பின் ஜீனின் மற்ற பகுதியிலும் நடைபெறும். ஒரு சிறு

மூலக்கூறு இணைவதால் ஏற்படும் டெர்மினேஷன் (முடித்தல்) வடிவத்தில், படிஎடுத்தல் முடிக்கப்படுகிறது. ஒரு RNA லீடர்வரிசை எதிர் டெர்மினேட்டர் வடிவத்திற்கும், டெர்மினேட்டர் வடிவத்திற்கும் இடையே மாறிமாறி இருக்கும். இதற்கு ரிபோஸ்விட்சு என்று பெயர்.

முடிவு விளைபொருள் தடைகாரணியாகச் செயல்படுதல் (End product inhibition)

ஒரு உயிர் உருவாக்க வழிப்பாதையில் தோன்றும் முடிவு விளைபொருள் செல்லினுள் பயன்படுத்தப்படாமல், குவிந்து கொண்டே இருந்தால், அதுவே அப்பொருள் மேலும் உருவாக்கப்படுவதைத் தடை செய்கிறது. இது பின்னோக்கி கொடுக்கும் தடை (feed back inhibition) எனப்படுகின்றது. எ.கோலியில் ஐசோலியூசின் உருவாக்கம் இதற்கு ஒரு உதாரணம் ஆகும். வளர் ஊடகத்தில் ஐசோலியூசின் சேர்க்கப்பட்டால், எ.கோலி தானாகவே தனக்கு வேண்டிய ஐசோலியூசினை உருவாக்கிக் கொள்வதை நிறுத்தி விடுகின்றது. ஐசோலியூசின் மூலக்கூறுகள், அதனை உருவாக்கும் நொதிகளோடு பிணைந்து அந்நொதிகளின் செயலைத் தடுத்து விடுகின்றது. இவ்வாறு நொதியளவில் செயல் தடைசெய்யப்படுவது அல்லோஸ்டீரிக் எதிரெதிர்ச்செயல் எனப்படுகின்றது.

யூகேரியோட்டுகளில் ஜீன் ஒழுங்குபாடு

யூகேரியோட்டுகளிலும் படிஎடுத்தல் நிலையில் பல ஜீன்கள் ஒழுங்குபடுத்தப்படுகின்றன. என்ஹான்சர்கள் (மேம்படுத்திகள்) (enhancers) எனும் வரிசைகள் DNAவில் காணப்படும். இவை சிறிய வரிசையுடன், அவை கட்டுப்படுத்தும் ஜீன்களின் அருகே பல இடங்களில் காணப்படும் என்ஹான்சருடன் படிஎடுத்தலைத் தூண்டும் (activators) அமைப்புகள் இணையும். படிஎடுத்தலைத் தூண்டும் புதிதாய் சேர்க்கும் (ரெக்ரூட்மண்ட்) மாதிரியில், ஒரு படிஎடுத்தல் தூண்டு புரதம் நேரிடையாக படிஎடுத்தல் அமைப்பில் உள்ள ஒன்று அல்லது பல புரத கூறுகளுடன் வினையில் ஈடுபடும். இந்த புரத கூறுகள் TFIID, அதிலுள்ள TATA பெட்டி இணையும் புரதம் (TBP), பல TBP காரணிகள் அல்லது பால்II முழுநொதியாகும். யூகேரியோட்டுகளில் ஒரு முழு படிஎடுத்தல் அமைப்பு TFIID, RNA பாலிமரேஸ்II மற்றும் பல படிஎடுத்தல் காரணிகள் கொண்டிருக்கும்.

படி எடுத்தல் காரணிகள்

தனித்தனியான புரத பெருங்கூற்றுகளை (domain) கொண்டு குறிப்பிட்ட பணிகளைக் கொண்டிருக்கும். 3 விதமான பெருங்கூறுகள் பொதுவாய்

செல்லில் காணப்படும்.DNAவுடன் இணையும் பெருங்கூறுகள் ஒரு குறிப்பிட்ட 'கூறுகள்' (motif) அமைப்பைக்கொண்டிருக்கும். அவற்றில் சில

(1) ஹெலிக்ஸ்-டர்ன்-ஹெலிக்ஸ்
(2) துத்தநாக விரல்கள் (Zinc fingers)
(3) லியுசின் ஸிப்பர் கூறு போன்றவை.

குரோமாடினில் ஒரு படிஎடுத்தல் கூட்டு உருவாவதற்கு நியூக்ளியோலஸ் மாறுபாடு அடைய வேண்டும் அல்லது மாறி அமைய வேண்டும்.

மரபியல் ஒழுங்குபாடு

சில உயிரினங்களில் மரபியல் ஒழுங்குபாடும் நடைபெறும். இதில் DNA, வேதியல் முறையிலோ அல்லது புரதம் இணைவதாலோ மாற்றப்படும். அதிகமாக சைடோசின் மிதைல் ஏற்றம் பெற்றால் ஜீன் செயல்படாது அமைதியாகிவிடும் (gene silencing). சில சமயம் DNA நகல் எண்மாற்றம் அல்லது DNA வரிசை மாற்றம் ஏற்படும்.

ஜீன் மாற்றி ஒட்டப்படல் (Gene splicing)

படி எடுக்கப்படும் ஜீன்கள் மாறிமாறி ஒட்டப்படுவதால் உருவாகும் mRNA மூலக்கூறுகள் வெவ்வேறு திறனுடன் மொழிபெயர்க்கப்படும் அல்லது பல்வேறு புரதங்களை உருவாக்கும்.

RNA குறுக்கீடு (RNA i)

சிலசமயம் சில சிறிய இரட்டை இழை RNA, படிஎடுக்கப்பட்ட அமைப்பையொத்த வரிசைகளை அழித்துவிடும். இதற்கு RNA குறுக்கீடு என்று பெயர்.

மொழிபெயர்த்தல் நிலையில் ஒழுங்குபாடு

கூறுணர் எதிர் (antisense) ஒழுங்குபாடு RNAக்கள், mRNAவுடன் இணைந்து மொழிபெயர்த்தலை தடுக்கும் அல்லது தூண்டும். இவற்றைத்தவிர ஹார்மோன்களும், சைடோகைன்களும் ஜீன் ஒழுங்குபாட்டில் ஈடுபடுகின்றன.

9. மூலக்கூறு குளோனிங் : DNA குளோனிங், rDNA தொழில் நுட்பம்: மரபுப் பொறியியல் தொழில் நுட்பம், செல் சார்ந்த மூலக்கூறு குளோனிங், PCR சார்ந்த மூலக்கூறு குளோனிங்

(Molecular Cloning: DNA Cloning, rDNA technology: Techniques of Genetic Engineering, Cell Based Molecular Cloning, PCR Based Molecular Cloning)





குறிப்பிட்ட DNA வரிசையைப் பிரித்தெடுத்து, அதன் பன்மடங்கு நகல்களை, செல்மூலமாக (*in vivo*) பெறும் செய்முறைக்கு **மூலக்கூறு குளோனிங்** அல்லது **DNA குளோனிங்** அல்லது **ஜீன் குளோனிங்** என்று பெயர். ஜீன்களைக் கொண்ட DNA துண்டுகளைப் பெரிதாக்க (amplify) குளோனிங் அடிக்கடி பயன்படுத்தப்படுகிறது. ஆனால் புரமோட்டர்கள், குறியீடற்ற (non-coding) வரிசைகள், வேதியல் முறைப்படி உருவாக்கப்பட்ட ஒலிகோநியூக்ளியோடைட்கள் மற்றும் அங்கொன்றும் இங்கொன்றுமாக துண்டாக்கப்பட்ட DNA ஆகியவற்றைப் பெரிதாக்கவும் குளோனிங் முறை பயன்படுத்தப்படுகிறது. பல்வேறு விதமான உயிரியல் சோதனைகளிலும், புரதத்தைப் பெருமளவில் உற்பத்தி செய்யும் தொழிட்நுட்பங்களிலும் குளோனிங் முறை பயன்படுத்தப்படுகிறது.

அடிப்படை உயிரியலில், **குளோன்** என்ற வார்த்தை ஒரு பெற்றோர் உயிரினத்திலிருந்து பெறப்படும், செல் அல்லது உயிரியைக் குறிக்கும். ஆனால், தற்கால உயிரியலில் குளோன் என்ற வார்த்தை, ஒரு செல்லிலிருந்து பெறப்படும், அச்செல்லை அப்படியே ஒத்திருக்கும் பல செல்களின் தொகுப்பைக் குறிக்கும். ஒரு ஒற்றை மூதாதைச்செல் அல்லது மூலக்கூறின் அச்சாகத் தோன்றும் அநேக பிரதிகள் குளோன் எனப்படும்.

மூலக்கூறு அல்லது DNA குளோனிங்கை இருமுறைகளில் செயல்படுத்தலாம்.

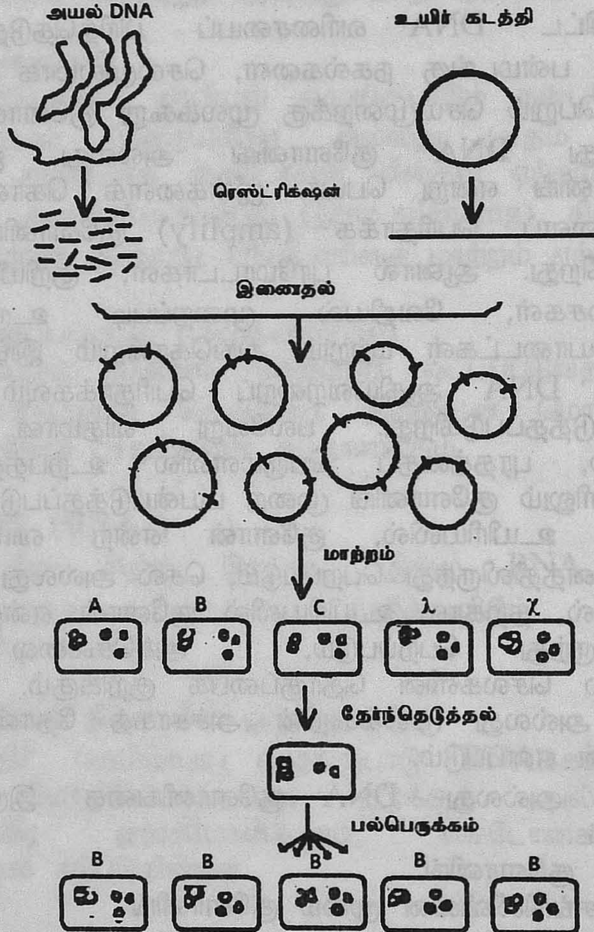
(1) **செல் சார்ந்த குளோனிங்**

(2) **பாலிமரேஸ் சங்கிலிவினை மூலம் குளோனிங்**

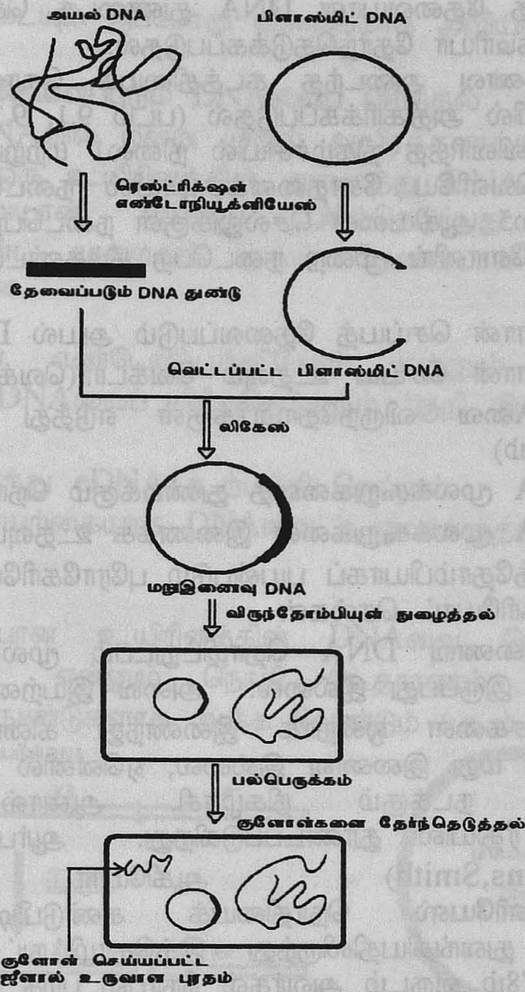
முதல் முறையில் தேவைப்படும் அயல் DNA ஒரு உயிர் கடத்தி (வெக்டார்-vector) மூலம் பாக்டீரியா போன்ற செல்லுக்குள் உட்செலுத்தப்படுகிறது. இரண்டாம் முறையில் செயற்கையாக ஜீன்கள் குளோன் செய்யப்படுகின்றன.

செல் சார்ந்த குளோனிங்
(மறு இணைவு DNA தொழில்நுட்பம்- Recombinant DNA technology)

ஜீன்கள் கையாளப்படுவதில் பல்வேறு சிக்கலான தொழிட்நுட்பங்கள் உள்ளன. இருப்பினும் rDNA தொழிட்நுட்பத்தின் அடிப்படை தத்துவங்கள் எளியது. அதில் கீழ்க்கண்ட நிலைகள் உள்ளன (படம் 9.1.).



படம் 9.1. ஒரு குளோனிங் சோதனை
(rDNA தொழில்நுட்பம்)



படம் 9.2. எ.கோலியினுள் யூகேரியோட் துண்டுகளை குளோன் செய்தல்

1. தேவையான ஜீன்களைத் தயார் செய்தல்: லட்சக்கணக்கான நியூக்ளியோடைட்கள் கொண்ட நீளமான DNA சங்கிலியை சிறு துண்டுகளாக உடைத்தல்.

2. இந்த சிறு துண்டுகளை ஒரு தகுந்த வெக்டாருடன் இணைத்தல்.

3. அயல் DNA துண்டுடன் மறு இணைவு அடைந்த வெக்டாரை ஒரு விருந்தோம்பியினுள் நுழைத்தல் (பாக்டீரியா, தாவர அல்லது விலங்கு செல்கள்). ஒவ்வொரு செல்லும் குறைந்தது ஒரு வெக்டாரையாவது தம்முள் எடுத்துக் கொண்டால் மாற்றத்தின் முடிவில் மறு இணைவு அடைந்த வெக்டாரை தம்முள் எடுத்துக்கொண்ட லட்சக்கணக்கான பாக்டீரியா கிடைக்கும். ஒவ்வொரு பாக்டீரியாவும் தம்முள் அயல் DNAவின் வெவ்வேறு சிறு துண்டைக் கொண்டிருக்கும்.

4. ஆய்வுக்குத் தேவையான DNA துண்டைக் கொண்ட மறு இணைவு அடைந்த பாக்டீரியா தேர்ந்தெடுக்கப்படுதல்.
5. மறு இணைவு அடைந்த கடத்தியைக் கொண்ட பாக்டீரியா பின் எண்ணிக்கையில் அதிகரிக்கப்படுதல் (படம் 9.1, 9.2.).

மேலே விவரித்த நிகழ்ச்சியில் நிலை1 மற்றும் நிலை2 ஆகியவை செல்லுக்கு வெளியே சோதனைக்குழாயில் நடைபெறுகின்றன. நிலை3, நிலை4, நிலை5 ஆகியவை செல்லுக்குள் நடைபெறுகின்றன.

ஜீன் குளோனிங் முறை நடைபெற கீழ்கண்டவைகள் தேவைப் படுகின்றன.

i) குளோன் செய்யத் தேவைப்படும் அயல் DNA
ii) குளோன் செய்ய உதவும் வெக்டார்(வெக்டார்கள் தேவைப்படும் DNAவை விருந்தோம்பிக்குள் எடுத்து செல்லும் ஊர்திகள் ஆகும்)
iii) DNA மூலக்கூறுகளைத் துண்டிக்கும் நொதிகள்
iv) DNA மூலக்கூறுகளை இணைக்க உதவும் நொதிகள்.
v) விருந்தோம்பியாகப் பயன்படும் புரோகேரியோட் அல்லது யூகேரியோட் செல்கள்

மறு இணைவு DNA தொழிட்நுட்பம் மூலம் கிடைக்கும் DNA இயற்கையில் இருப்பது இல்லை. அவை இயற்கையில் இருக்கும் இரு DNA வரிசைகளை ஒன்றாக இணைந்து கிடைக்கப் பெறுவதாகும். இது மரபியல் மறு இணைவு இல்லை, ஏனெனில் மரபியல் மறுஇணைவு செல்லுக்குள் நடக்கும் நிகழ்ச்சி. ஆனால் இத்தொழிட்நுட்பம் பொறியியல் ரீதியில் தூண்டப்படுகிறது. ஆர்பர், நாதன்ஸ், ஸ்மித் (Arber,**Nathens**,Smith) ஆகியோர் **ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ்** நொதியைக் கண்டுபிடித்து, பிரித்தெடுத்து பயன்படுத்த துவங்கியதிலிருந்து இத்தொழிட்நுட்பம் சாத்தியப்பட்டது. இதற்காக 1978ம் வருடம் அவர்கள் நோபல் பரிசு வென்றனர்.

மரபுப் பொறியியல் தொழில் நுட்பம்
(Techniques of Genetic Engineering)

ஜீன் வளர்ப்பு அல்லது மறு இணைவு DNA தொழில்நுட்பம் அல்லது மரபுப் பொறியியலில், கீழ்கண்ட செயல்பாடுகள் உள்ளன.

I. தேவைப்படும் DNAவைப் பிரித்தல்.
II. DNA துண்டுகளைப் பிரித்தெடுத்தல்.
III. அயல் DNAவை, வெக்டார் DNAவுடன் இணைத்து மறு இணைவு DNA உருவாக்குதல்.
IV. மறு இணைவு DNAவை விருந்தோம்பியினுள் நுழைத்தல்.
V. மறு இணைவு அடைந்த விருந்தோம்பியை அடையாளம் காணுதல்.

ஒவ்வொரு செயல்பாட்டையும் இப்போது விளக்கமாக அறியலாம்.

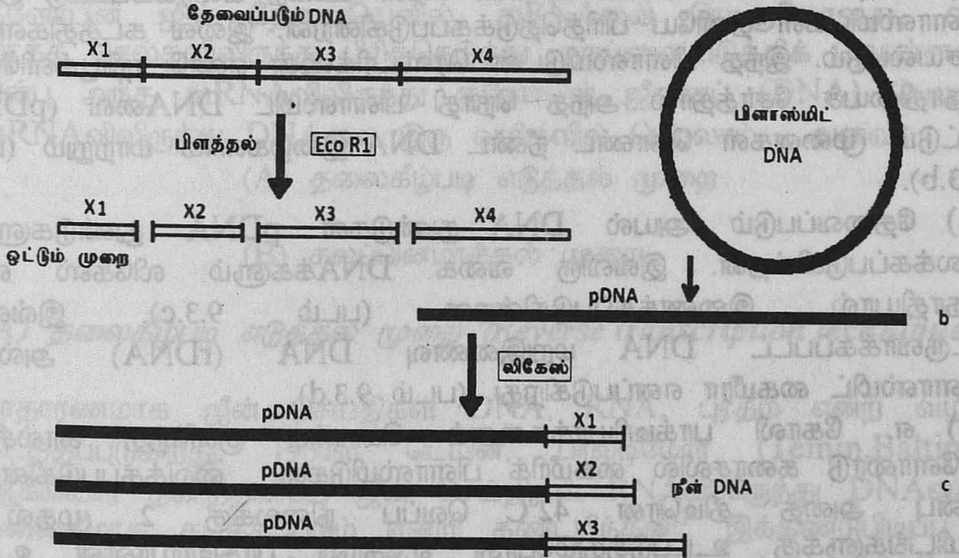
I. தேவைப்படும் DNAவைப் பிரித்தல்

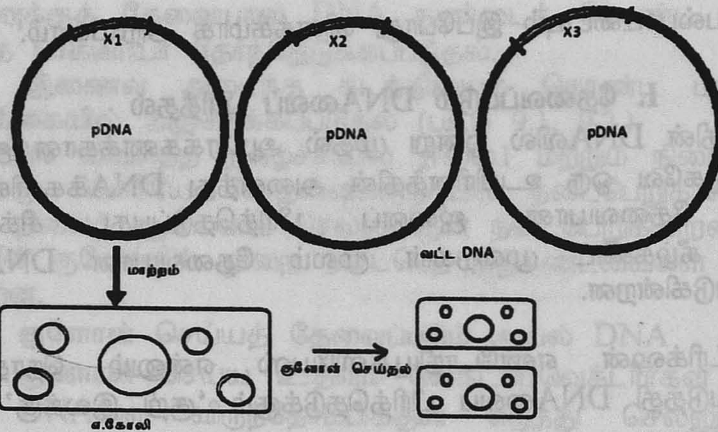
ஒரு உயிரினத்தின் DNAவில் ஒன்று முதல் ஆயிரக்கணக்கான ஜீன்கள் காணப்படும். ஆகவே ஒரு உயிரினத்தின் அனைத்து DNAக்களிலிருந்து வளர்ப்பதற்கு தேவையான ஜீனைப் பிரித்தெடுப்பது சிக்கலான பணியாகும். கீழ்கண்ட முறைகள் மூலம் தேவையான DNAக்கள் பிரித்தெடுக்கப்படுகின்றன.

1) ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் என்னும் நொதியைப் பயன்படுத்தி DNAவைப் பிரித்தெடுக்கும் 'குறி இலக்கு' (shot gun) முறை.
2) mRNA விலிருந்து cDNA உற்பத்தி செய்தல்.
3) நேரடியாக செயற்கையாக DNAவை உருவாக்குதல்.

குறி இலக்கு முறை:

(a) முதலில் தேவையான உயிரினத்தின் DNAவை ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் என்னும் நொதி (உதாரணம் : EcoR-II) பயன்படுத்தி பல சிறு துண்டுகளாக ஆக்க வேண்டும் (படம் 9.3. a).





படம் 9.3. குறிஇலக்கு முறை மூலம் ஜீன்களைப் பிரித்தல்

இவை அயல் DNA ஆகும். இத்துண்டுகள் படத்தில் X1, X2, X3, X4, எனக் காட்டப்பட்டுள்ளன. இவை ஒட்டும் முனைகளைக் கொண்டுள்ளன.

(b) பின்பு எ. கோலி பாக்டீரியாவின் வெளி உறை கரைக்கப்பட்டு அதன் பிளாஸ்மிட்கள் தனியே பிரித்தெடுக்கப்படுகின்றன. இவை கடத்திகளாகச் செயல்படும். இந்த பிளாஸ்மிடுடன் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் நொதியைச் சேர்த்தால் அந்த நொதி பிளாஸ்மிட் DNAவை (pDNA) ஒட்டும் முனைகள் கொண்ட நீண்ட DNA இழைகளாக மாற்றும் (படம் 9.3.b).

(c) தேவைப்படும் அயல் DNA துண்டுகள் pDNA துண்டுகளுடன் கலக்கப்படுகின்றன. இவ்விரு வகை DNAக்களும் லிகேஸ் என்ற நொதியால் இணைக்கப்படுகின்றன (படம் 9.3.c). இவ்வாறு உருவாக்கப்பட்ட DNA மறுஇணைவு DNA (rDNA) அல்லது **பிளாஸ்மிட் கைமீரா** எனப்படுகிறது. (படம் 9.3.d).

(d) எ. கோலி பாக்டீரியாக்களைக் கொண்ட குளிர்ந்த கால்சியம் குளோரைடு கரைசலில் கைமீரிக் பிளாஸ்மிடுகள் வைக்கப்படுகின்றன. பின்பு அதை திடீரென 42^0C வெப்ப நிலைக்கு 2 முதல் 5 நிமிடங்களுக்கு உட்படுத்தும்போது எ.கோலி பாக்டீரியாவின் உறை பிளாஸ்மிட் கைமீராக்கள் ஊடுருவிச்செல்வதற்கு ஏதுவாக மாறுகின்றது. இப்போது rDNAக்கள் எ.கோலியினுள் புகுந்து விடுகின்றன. இதற்கு மாற்றம் என்று பெயர்.

(e) நமக்குத் தேவையான DNA துண்டுகளைக் கொண்ட பாக்டீரியா பிரிக்கப்பட்டு, அவை வளர்ப்பு ஊடகத்தில் வளர்க்கப்படுகின்றன. பாக்டீரியா பெருக்கமடைந்து காலனியாக உருவாகிறது. ஒரு காலனியில்

உள்ள பாக்டீரியா யாவும் ஒரே ஒரு எ.கோலி செல்லிலிருந்து பெறப்பட்டதால், அவையாவும், மரபியற் தன்மையில் ஒத்துள்ளன. இம்மாதிரியான மரபியல் ரீதியான ஒத்த உயிரினங்கள் **குளோன்கள்** எனப்படுகின்றன. நேரடியாக ஜீனோமிக் DNAவிலிருந்து பெறப்பட்ட குளோன்களின் தொகுப்பு **ஜீனோமிக் DNA நூலகம் (genomic DNA library)** எனப்படுகின்றன.

mRNA விலிருந்து இரட்டை இழை cDNAவைப் பெறுதல்

குறி இலக்கு முறையில் தேவையான அயல் DNA, சிறு துண்டுகளாக ஆக்கப்பட்டு பாக்டீரியாவின் பிளாஸ்மிட் DNAவினுள் அங்கொன்றும் இங்கொன்றுமாக நுழைக்கப்படுகிறது. இம்முறையில் ஆய்வுககுத் தேவையான ஜீனை பிளாஸ்மிட் DNAவினுள் நுழைக்கும் வாய்ப்பு குறைவாகும். இதற்கு மாறாக தேவையான DNAவைப் பிரித்தெடுக்க ஒரு குறிப்பிட்ட ஜீனால் படிஎடுக்கப்பட்ட mRNAவை முதலில் கண்டுபிடித்து, அதன்பின் அந்த mRNAவிலிருந்து, DNAவைப் பெறலாம். வெவ்வேறு செல் வகைகள், வெவ்வேறு வகை குறிப்பிட்ட புரதங்களை மட்டும் உற்பத்தி செய்வதால், அந்த செல்களிலிருந்து தேவையான mRNAவைச் சற்றே எளிதாகப் பெறலாம். உதாரணமாக குளோபின் ஜீன் தேவையெனில், mRNAவை ரெடிகுலோசைட் எனும் இரத்த செல்களிலிருந்து பிரித்தெடுத்து, தூய்மைப்படுத்திக் கொள்ளலாம். பின்பு அந்த mRNAவிலிருந்து குளோபின் ஜீனைப் (DNA) பெறலாம். mRNAவிலிருந்து DNAவை இரு வழிகளில் பெறலாம். அவை,

(A) தலைகீழ்படி எடுத்தல் முறை

(B) கலப்பினமாக்கல் முறை.

(A) தலைகீழ்படி எடுத்தல் முறை (Reverse transcription technique)

சாதாரணமாக ஜீன் செய்திகள் DNA, RNA, புரதம் என்ற வழியில் கடத்தப்படுகிறது. 1960ல் டெமின், பால்டிமோர் (Temin,Baltimore) ஆகியோர் தனித்தனியே ஜீன் செய்திகள் RNAவிலிருந்து DNAவுக்குத் தலைகீழாக கடத்தப்படும் என்று கண்டறிந்தனர். இக்கண்டுபிடிப்பு ஒரு நீண்ட DNA சங்கிலியில் ஒரு குறிப்பிட்ட ஜீனை மட்டும் பிரித்தெடுக்க உதவுகிறது. இம்முறையில் கீழ்கண்ட நிலைகள் உள்ளன (படம் 9.4.).

i) தேவையான ஜீன்களின் mRNAவைப் பிரித்தெடுத்து தூய்மைப்படுத்தி, அதை ஓரிழை DNA (ssDNA) உருவாவதற்கு தேவையான வார்ப்பாக பயன்படுத்தலாம். mRNAவிலிருந்து DNA

உருவாவதை ரிவர்ஸ் டிரான்ஸ்கிரிப்டேஸ் (reverse transcriptase) என்ற நொதி தூண்டுகிறது. இம்முறையில் உருவான ஓரிழை DNA, RNAவின் பேஸ்களைப் பூர்த்தி செய்வதாய் உள்ளதால் அந்த DNA, பூர்த்தி செய்யும் DNA, (cDNA) (complementary DNA) என அழைக்கப்படுகிறது. இந்த cDNA தன்னையே மடித்து ஒரு கொண்டை ஊசி வளைவை ஏற்படுத்துகிறது.

ii) பின்பு ஒரு கார திரவத்தை பயன்படுத்தி mRNA வார்ப்பு நீரால் பகுத்தல் (hydrolysis) மூலம் பிரித்தெடுக்கப்படுகிறது. அப்போது ஓரிழை cDNA மட்டும் உள்ளது.

iii) எ.கோலி பாக்டீரியத்தின் DNA பாலிமரேஸ்I நொதியைப் பயன்படுத்தி, ஓரிழை cDNA ஈரிழை DNA (dsDNA)வாக மாற்றப்படுகிறது.

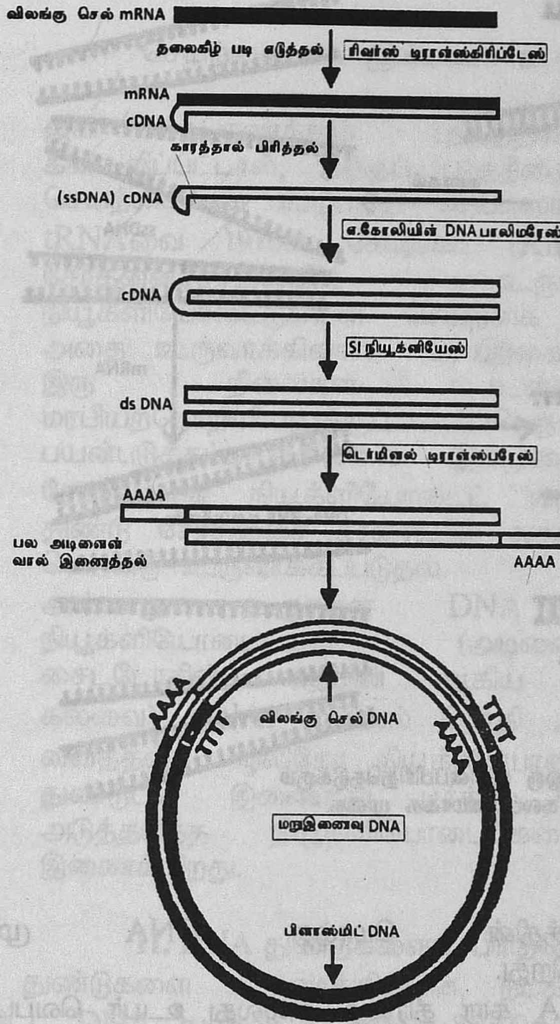
iv) DNAவின் இரு இழைகட்கு இடையேயான பிணைப்பு S1 நியூக்ளியேஸ் என்ற நொதியினால் அகற்றப்படுகிறது.

v) பல தைமின்கள் (dt=டி-ஆக்ஸி-தைமின்) அல்லது பல அடினைன்க்ள் (da=டி-ஆக்ஸி-அடினைன்) dsDNAவின் நுனிகளில் வால்போல் இணைக்கப்படுகின்றன. இச்செயல் நடைபெற டெர்மினல் டிரான்ஸ்பரேஸ் என்ற நொதியும், ATPயும் உதவுகின்றன.

vi) dsDNA பின்பு வெக்டார் DNAவுடன் இணைக்கப்பட்டு, விருந்தோம்பிக்கு மாற்றப்பட்டு பின் குளோன் செய்யப்படுகிறது. இவ்வாறு குளோன் செய்யப்பட்ட cDNAக்கள் **cDNA நூலகம்** என அழைக்கப்படுகின்றன.

மேலே விவரித்த முறையில் cDNA ஒரு கொண்டை ஊசி வளைவை ஏற்படுத்துவதால், S1 நியூக்ளியேஸால் பிளக்கப்படும்போது 5’ முனையில் உள்ள சிறு வரிசை இழக்கப்படுகிறது. இக்குறையை சரி செய்ய தற்காலத்தில், முதல் cDNA இழை உருவாக்கப்பட்டதுமே அதன் ஒரு முனையில் டெர்மினல் டிரான்ஸ்பரேஸ் நொதி உதவியுடன் பல சிஸ்டின்கள் கொண்ட ஒரு வால் சேர்க்கப்படுகிறது. இதனால் எந்த வரிசையும் இழக்கப்படுவதில்லை.

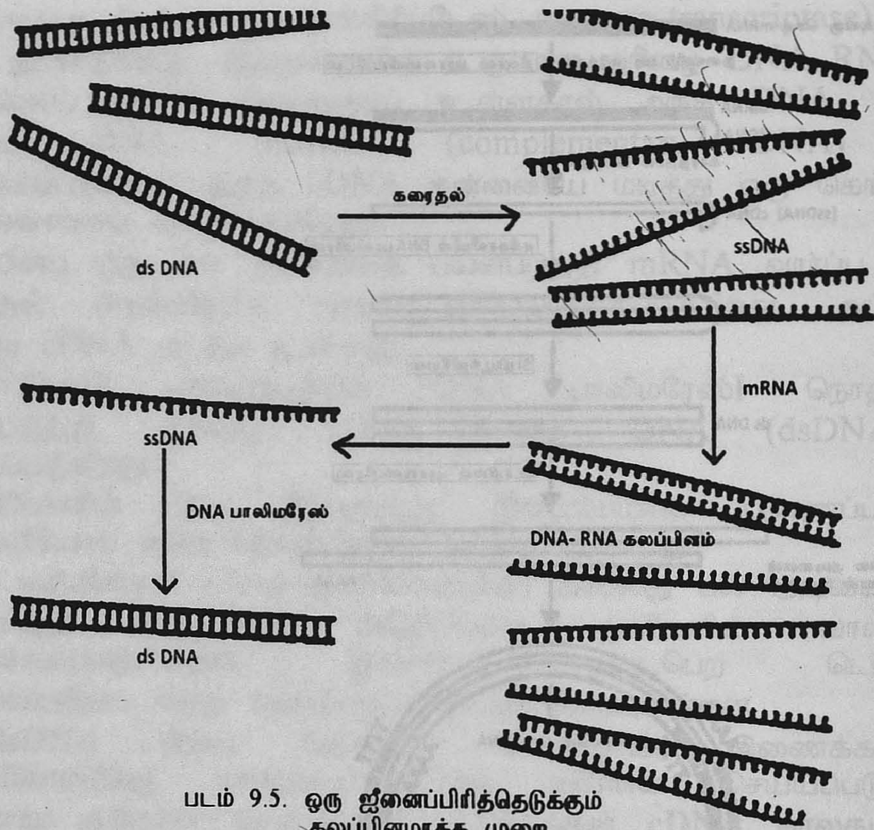
தற்காலத்தில் பாலிமரேஸ் சங்கிலி வினையைத் தொடர்ந்து (PCR) தலைகீழ் படிஎடுத்தல் (RT-PCR) மூலம் mRNAவை பெரிதாக்கி cDNA பெறப்படுகிறது. RT-PCR என்பது cDNA மூலக்கூறுகளை விரைவாக பெறும் முறை. ஆனால் இதில் தவறுகள் நேரவும் வாய்ப்பு உள்ளது.



படம் 9.4. mRNA விலிருந்து ஜீனைப்பெறும் தலைகீழ் படிஎடுத்தல் முறை

(B)கலப்பினமாக்கல் முறை (hybridization)

mRNA எந்த DNAவிலிருந்து எடுக்கப்பட்டதோ, அந்த DNAவின் பூர்த்திசெய்யக்கூடிய பகுதிகளுடன் 'கூட்டு' சேரும் என்ற கொள்கையின் அடிப்படையில் இம்முறை உருவாக்கப்பட்டுள்ளது. கலப்பினமாக்கல் முறை நிகழ்ச்சிகள் பின் வருமாறு (படம் 9.5.).



படம் 9.5. ஒரு ஜீனைப்பிரித்தெடுக்கும் கலப்பினமாக்க முறை

1) ஒரு உயிரினத்தின் மொத்த DNA முதலில் பிரித்தெடுக்கப்படுகிறது.
2) இந்த ஈரிழை DNA கார திரவம் அல்லது உயர் வெப்பத்தின் உதவியால் ஓரிழை DNAவாக மாற்றப்படுகிறது.
3) இந்த ssDNA, DNA இழைகள் ஜீனில் இருந்து படிஎடுக்கப்பட்ட mRNA இழைகளுடன் கலக்கப்படுகின்றன.
4) mRNA, DNAவின் பூர்த்திசெய்யும் பகுதிகள் ஆகியவை இணைசேர்ந்து DNA–RNA கலப்பினத்தொகுப்பு உருவாகிறது.
5) இந்தத் தொகுப்பைப் பிரித்தெடுத்து mRNAவிலிருந்து ssDNA வைத் தனியே பிரிக்க முடியும்.
6) தனியே பிரித்தெடுக்கப்பட்ட ssDNAவின் பேஸ் வரிசை, mRNA எந்த DNA விலிருந்து படிஎடுக்கப்பட்டதோ, அந்த DNAவின் பேஸ் வரிசையைப் போன்றே காணப்படும்.
7) பின்பு எ.கோலியின் DNA பாலிமரேஸ்I நொதியைப் பயன்படுத்தி ssDNAவை ds DNAவாக மாற்றலாம் (படம் 9.5.).

செயற்கையாக ஜீன்களை உருவாக்குதல்

(i) ஜீன் உருவாக்கும் புரதத்தின் தன்மை நன்கு கண்டறிப்பட்டால், அந்தப் புரதத்தை உருவாக்கிய ஜீனை செயற்கையாக உற்பத்தி செய்யலாம். ஈஸ்ட் அலனைன் tRNAவை 1970ல் கோரானா (Khorana) வெற்றிகரமாகச் சோதனைச்சாலையில் உருவாக்கினார். 77 நியூக்ளியோடைடுகளை செயற்கை முறையில் அமைத்து, அதை உருவாக்கினார். செயற்கை ஜீன் உருவாக்கத்தில் இரு நிலைகள் உள்ளன. இருப்பினும் மரபியற்பொறியியலுக்குப் பெருமளவில் இம்முறை பயன்படுத்தப்படுவதில்லை. இம்முறை வருமாறு:

(ii) தேவையான நியூக்ளியோடைட் வரிசை கொண்ட DNA துண்டு சோதனைச் சாலையில் தகுந்த வேதியற்பொருட்கள் கொண்டு உருவாக்கப்படுதல்.

(iii) அவ்வாறு உருவான DNA துண்டை ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட்கள் (அடினைன், குவானைன், சைட்டோசின், தைமின் ஆகிய நியூக்ளியோடைட்களின் கலவை) DNA, லிகேஸ் நொதி ஆகியவற்றுடன் சேர்த்து வைத்தல். ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட்கள் ஓரிழை DNA துண்டுடன் இணைந்து பூர்த்தி செய்து கொள்கின்றன. அடுத்தடுத்த நியூக்ளியோடைட்களை லிகேஸ் நொதி இணைக்கிறது.

II. DNA துண்டுகளைப் பிரித்தெடுத்தல்

DNA துண்டுகளை உருவாக்கியபின், நமக்குத் தேவையான ஒரு குறிப்பிட்ட DNA துண்டை தனியே பிரித்தெடுத்தல், ஜீன் வளர்ப்பில் அடுத்த நிலையாகும். முழு DNA சங்கிலியும் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதியால் கரைக்கப்பட்டு, சிறு துண்டுகளாக ஆக்கப்பட்டபின் ஜெல் எலெக்ட்ரோபோரசிஸ் முறை மூலம், துண்டுகளின் அளவிற்கேற்பப் பிரிக்கப்படுகின்றன. ஒரே அளவுள்ள துண்டுகள் யாவும் ஜெல்லில் ஒரே பட்டையாகக் காணப்படும். அந்த ஜெல்லிலிருந்து தேவையான DNA மூலக்கூறு கொண்ட பட்டையை சதர்ன் ப்ளாட்டிங் முறை மூலம் பெறலாம்.

III. அயல் DNAவை வெக்டார் DNAவுடன் இணைத்து மறுஇணைவு DNAவை உருவாக்குதல்

பிரித்தெடுக்கப்பட்ட தேவையான DNAவை ஒரு விருந்தோம்பி செல்லினுள் நிரந்தரமாய் நுழைக்க ஒரு வெக்டார் எனும் DNA

மூலக்கூறு தேவை. ஆகவே பிரித்தெடுக்கப்பட்ட DNA துண்டை வெக்டாருடன் இணைத்தல் மரபுப் பொறியியலின் அடுத்த நிலையாகும். பொதுவாக பிளாஸ்மிட்கள், பாக்டீரியோபேஜ்களின் DNA ஆகியவை வெக்டார்களாகச் செயல்படுகின்றன. நூற்றுக்கணக்கான உயிர் கடத்திகள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. பல இதற்காக செயற்கையாக உற்பத்தி செய்யப்படுகின்றன. எவ்வகை கடத்தியாய் இருப்பினும் அவை 3 பண்புகளைக் கொண்டிருக்க வேண்டும்,

(1) அவை ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸால் பிளக்கப்படுவதற்காக, ஒரே ஒரு இடத்தை மாத்திரமே கொண்டிருக்க வேண்டும்.

(2)அவை ஒன்று அல்லது அதற்கு மேற்பட்ட, எளிதாகக் கண்டறியக்கூடிய, மரபியல் குறியீடுகளைக் கொண்டிருக்க வேண்டும். உதாரணம் உயிர்எதிர் பொருள் (antibiotic) எதிர்ப்பு. இதன் மூலம் இந்த கடத்திகள் அயல் DNAவை எடுத்துக் கொண்டனவா என்பதை எளிதில் அறியலாம்.

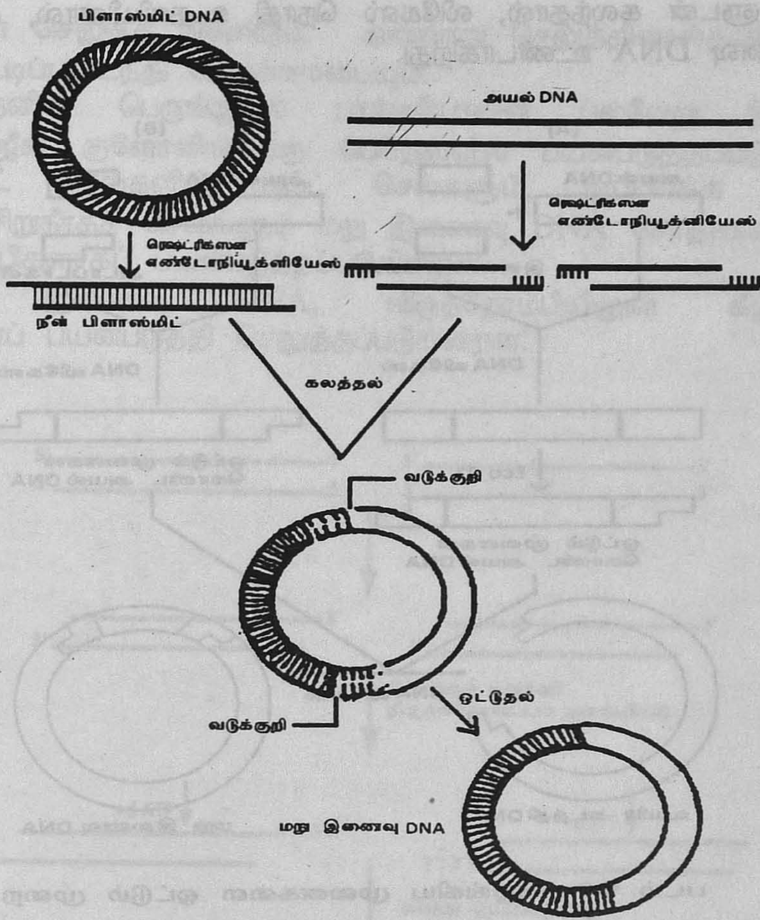
(3) அவை ஒரு இரட்டித்தல் துவங்கு இடத்தைக் (origin of replication) கொண்டிருக்க வேண்டும். இதன் மூலம் அவை தேவையான விருந்தோம்பி செல்களில் பெருக்கமடைய முடியும்.

வெக்டார்கள் வட்ட வடிவமான ஈரிழை கொண்ட DNA மூலக்கூறுகள் ஆகும். அயல் DNAவைத் துண்டுகளாக உடைக்கப் பயன்படுத்திய அதே ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸை வெக்டார்கள் மீது பயன்படுத்தினால், அது வெக்டார் DNAவை மழுங்கிய நுனி அல்லது நீட்டிய நுனிகள் கொண்ட நீளமான மூலக்கூறாக மாற்றிவிடும்.

DNA துண்டுகளை வெக்டார்களுடன் இணைக்க மூன்று முறைகள் உள்ளன. அவையாவன: (a) நீட்டிய நுனிகளை ஒட்டும் முறை (b) மழுங்கிய நுனிகளை ஒட்டும் முறை (c) ஒத்த பாலிமர் வால் இணைப்பு முறை.

(a) நீட்டிய நுனிகளை (ஒட்டும் நுனிகள்) ஒட்டும் முறை

வெக்டார் DNA அயல் DNA ஆகிய இரண்டும் ஒரே ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதியால் வெட்டப்படுவதால், அயல் DNAவின் நீட்டிய நுனி (ஒட்டும் நுனிகள்) வெக்டார் DNAவின் நீட்டிய நுனிகளைப் பூர்த்தி செய்வதாய் இருக்கும் (படம் 9.6.). ஆகவே இரண்டு DNAக்களையும் கலக்கும்போது, அவை ஒரு வட்டமான மூலக்கூறாக மாறும். இரு இழைகளும் ஒட்டும் இடத்தில் ஒரு வடுக்குறி (nick) காணப்படும். DNA லிகேஸை இதன் மேல் இட்டால், அது இந்த வடுக்குறியை நன்கு மூடி நிரப்பி விடுகிறது. இப்போது இரு வெவ்வேறு வகை DNAக்களை இணைத்து மறு இணைவு DNA கிடைக்கிறது.

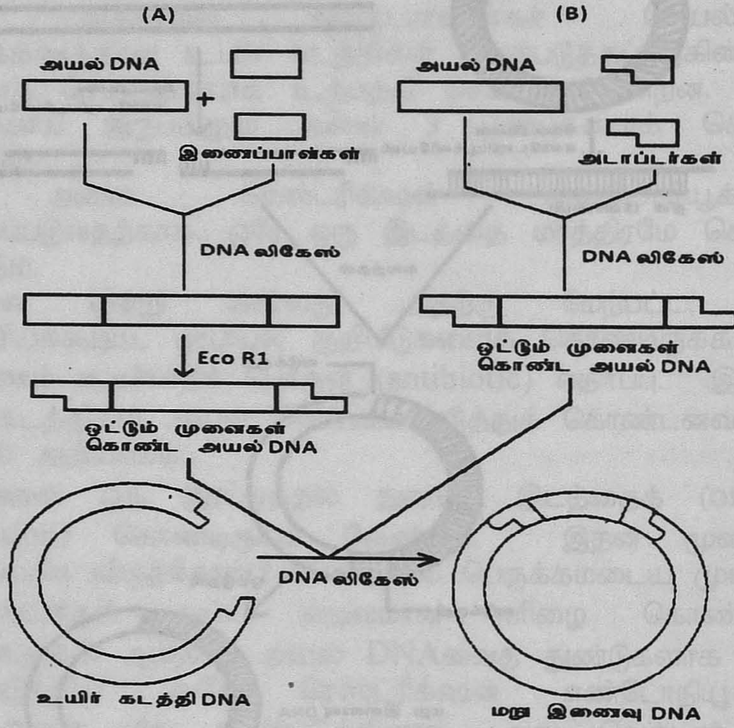


படம் 9.6. நீள் முனைகளை ஒட்டும் முறை

(b) மழுங்கிய நுனிகளை ஒட்டும் முறை

சில ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதிகள் DNA இழைகளை மழுங்கிய நுனிகள் கொண்டதாய் வெட்டும். மழுங்கிய நுனிகள் இணைக்க இணைப்பான்கள் (linkers) பயன்படுத்தப்படுகின்றன. இணைப்பான்கள் என்பது சிறு இரட்டைஇழை DNAக்கள் ஆகும் (படம் 9.7.). அடாப்டர்கள் (பொருத்தமாக்குபவை) எனும் சிறு DNA துண்டுகள் மழுங்கிய அல்லது நீட்டிய அமைப்புகளைக் கொண்டிருக்கும். அதன் மூலம் மழுங்கிய முனை கொண்ட DNAவுடன் இணைக்கலாம். அயல் DNAக்களின் இரு மழுங்கிய நுனிகளிலும் இணைப்பான்கள் (கொக்கிகள்) இணைக்கப்படுகின்றன. இவ்விணைப்புக்கு DNA லிகேஸ் நொதி உதவுகிறது. இப்போது, இந்த அயல் DNAவை ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதி தாக்கும்போது நீட்டிய ஒட்டும் நுனிகள் கொண்ட DNA இழை உருவாகிறது. இதை ஒட்டும் நுனிகள் கொண்ட தகுந்த

வெக்டார்களுடன் கலந்தால், லிகேஸ் நொதி உதவியினால், வட்டமான மறு இணைவு DNA உண்டாகிறது.



படம் 9.7. மழுங்கிய முனைகளை ஒட்டும் முறை

(c) ஒத்த பாலிமர் வால் முறை

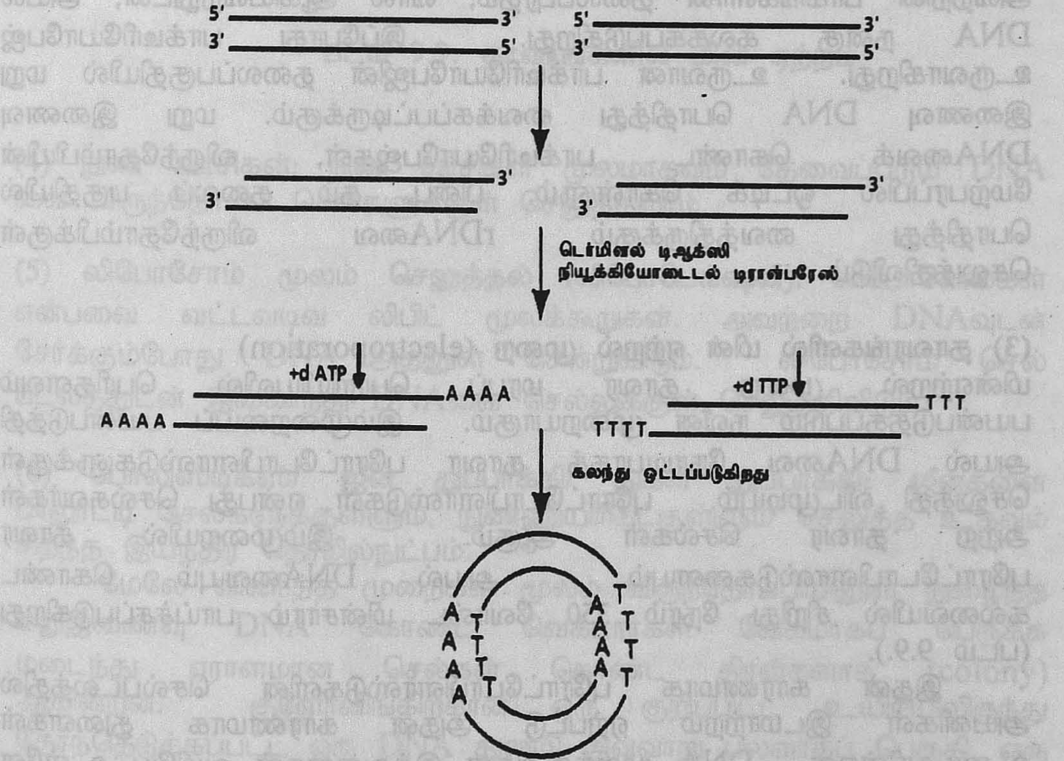
மழுங்கிய நுனிகள் கொண்ட அயல் DNAவை வெக்டார் DNAவுடன் இணைக்க இம்முறை பயன்படுத்தப்படுகிறது. அயல் DNAவின் இரு நுனிகளிலும் டெர்மினல் டிரான்ஸ்பரேஸ் (டி ஆக்ஸி நியூக்ளியோடைடில் டிரான்ஸ்பரேஸ்) நொதியைப் பயன்படுத்தி பல அடினைன் (pA) நியூக்ளியோடைட்கள் இணைக்கப்படுகின்றன. வெக்டார் DNAவின் இரு நுனிகளிலும் டெர்மினல் ட்ரான்ஸ்பரேஸ் நொதியைப் பயன்படுத்தி பல தைமின் (pT) நியூக்ளியோடைட்கள் இணைக்கப்படுகின்றன. இவ்விரு மூலக்கூறுகளையும் கலந்து, தகுந்த

லிகேஸ் நொதியைச் சேர்த்தால் அவை இரண்டும் இணைந்து ஒரு மறு இணைவு DNA உருவாகிறது (படம் 9.8.). அயல் DNA வெக்டார் DNAவுடன் இணைந்து மறு இணைவு DNA உருவாகிறது. பின்னர், இந்த மறு இணைவு DNAவை விருந்தோம்பி எனப்படும் வளர்ப்பு

உயிரிக்குள் செலுத்த வேண்டும். அவ்வாறு செலுத்தினால்தான் அயல் DNA இரட்டிப்படைந்து பெருக்கமடையும்.

மனிதனின் பெருங்குடல் பாக்டீரியாவின் பல்வேறு இனங்கள் (strains) ஜீன் குளோனிங்கிற்கு பெரிதளவில் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. யூகேரியோட் செல்களில் ஈஸ்ட் செல்களும், ஆப்பிரிக்க பச்சைக் குரங்கின் சிறுநீரகச் செல்களும் மறு இணைவு DNA சோதனைகளுக்கு விருந்தோம்பிகளாகப் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

மறு இணைவு DNA, விருந்தோம்பியினுள் கீழ்க்கண்ட முறைகளைப் பயன்படுத்தி செலுத்தப்படுகின்றன.



படம் 9.8. ஒத்த பாலிமர் வால் முறை

IV. மறு இணைவு DNAவை விருந்தோம்பியினுள் நுழைத்தல்

(1) பாக்டீரியாவில் மாற்றம் (transformation)

அயல் DNAவைத் தாங்கிய வெக்டார் பிளாஸ்மிடாக இருந்தால் அதை விருந்தோம்பி எ.கோலி பாக்டீரியாவுக்குள் செலுத்தும் முறைக்கு **மாற்றம்** என்று பெயர். விருந்தோம்பியினுள் சென்றபின் அயல் DNA தம்மை வெளிப்படுத்திக் கொள்ளும். இந்நிகழ்ச்சி வேறொரு அத்தியாயத்தில் விரிவாக விளக்கப்பட்டுள்ளது.

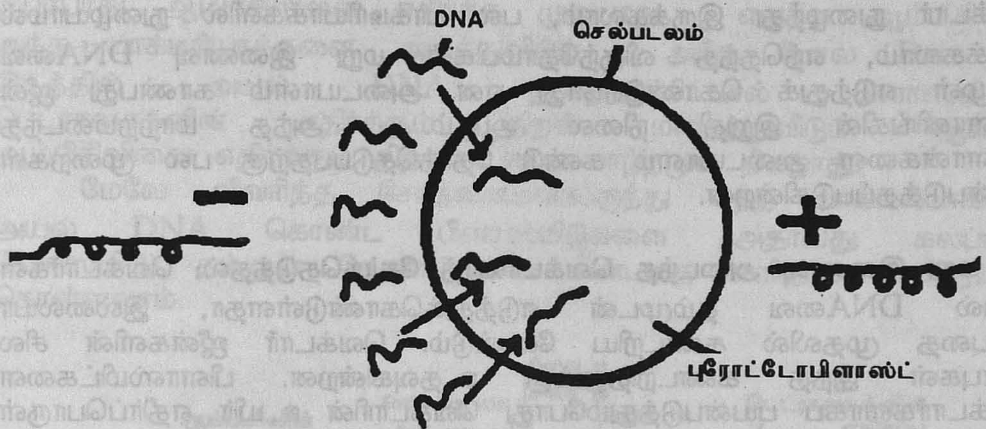
(2) பாக்டீரியோபேஜ் மூலம் செலுத்துதல்

பாக்டீரியோபேஜை வெக்டாராகப் பயன்படுத்தி அதன் மூலம் அயல் DNAவை விருந்தோம்பியினுள் செலுத்தும் முறைக்கு டிரான்ஸ்ஃபெக்ஷன் அல்லது தொற்றுதல் (transfection) என்று பெயர். இம்முறையில் ஒரு பாக்டீரியோபேஜ் உருவாவதற்குத் தேவையான அவற்றின் பாகங்களான தலைப்புரதம், வால் ஆகியவற்றுடன், அயல் DNA நன்கு கலக்கப்படுகிறது. இப்போது பாக்டீரியோபேஜ் உருவாகிறது. உருவான பாக்டீரியோபேஜின் தலைப்பகுதியில் மறு இணைவு DNA பொதித்து வைக்கப்பட்டிருக்கும். மறு இணைவு DNAவைக் கொண்ட பாக்டீரியோபேஜ்கள், விருந்தோம்பியின் மேற்பரப்பில் ஒட்டிக் கொள்ளும். பின்பு, தம் தலைப் பகுதியில் பொதித்து வைத்திருக்கும் rDNAவை விருந்தோம்பிக்குள் செலுத்திவிடும்.

(3) தாவரங்களில் மின் ஏற்றல் முறை (electroporation)

மின்ஏற்றல் முறை தாவர மரபுப் பொறியியலில் பெரிதளவும் பயன்படுத்தப்படும் நவீன முறையாகும். இம்முறையைப் பயன்படுத்தி அயல் DNAவை நேரடியாகத் தாவர புரோட்டோபிளாஸ்டுகளுக்குள் செலுத்தி விடமுடியும். புரோட்டோபிளாஸ்டுகள் என்பது செல்சுவர்கள் அற்ற தாவர செல்கள் ஆகும். இம்முறையில் தாவர புரோட்டோபிளாஸ்டுகளையும். அயல் DNAவையும் கொண்ட கலவையில் சிறிது நேரம் 350 வோல்ட மின்சாரம் பாய்ச்சப்படுகிறது (படம் 9.9.).

இதன் காரணமாக புரோட்டோபிளாஸ்டுகளின் செல்படலத்தில் அயனிகள் இடமாற்றம் ஏற்பட்டு அதன் காரணமாக துளைகள் உண்டாகின்றன. DNA மூலக்கூறுகள் இத்துளைகள் வழியே உள்ளே நுழைகின்றன. பின்பு இந்த புரோட்டோபிளாஸ்டுகள் தகுந்த ஊடகத்தில் வளர்க்கப்படுகின்றன. இதிலிருந்து புதிய ஜீன்கள் கொண்ட புதிய தாவரங்களை உருவாக்கலாம்.



படம் 9.9. தாவரங்களில் மின் ஏற்றம்

(4) நுண் ஊசிகள்: நுண் ஊசிகள் மூலமாகவும் தேவைப்படும் DNA வை விருந்தோம்பி செல்களுக்குள் செலுத்தலாம்.

(5) லிபோசோம் மூலம் செலுத்தல் (லிபோபெக்ஷன்): லிபோசோம்கள் என்பவை வட்டவடிவ லிபிட் மூலக்கூறுகள். அவற்றை DNAவுடன் சேர்க்கும்போது DNA அதனுள் சென்றுவிடும். லிபோசோம் செல் படலத்துடன் இணைந்து DNAவை செல்லுக்குள் செலுத்திவிடும்.

(6) போலிஸ்டிக்ஸ்/ ஜீன் துப்பாக்கி/ துகள் துப்பாக்கி: ஜீன்களை பாலூட்டி செல்களுக்குள்ளும், நுண்ணுயிரிகட்குள்ளும் செலுத்த உதவும் சிறந்த இயந்திர தொழில்நுட்பம்.

மேலே விவரித்த முறைகள் மூலம் விருந்தோம்பியினுள் நுழைந்த மறுஇணைவு DNA கொண்ட வெக்டார்கள் வேகமாகப் பெருக்க மடைந்து ஏராளமான செல்கள் கொண்ட திரள்களாக (colony) ஆகின்றன. குளோனிங்கிற்கான ஒரு குறிப்பிட்ட உயிரியிலிருந்து தேர்ந்தெடுக்கப்பட்ட ஒரு DNA துண்டு இவ்வாறு பலவாகப் பெருகி, ஒரு தொகுப்பாகக் கிடைக்கிறது. இதற்குத்தான் **ஜீன் குளோனிங் (ஜீன் வளர்ப்பு)** என்று பெயர்.

V. மறு இணைவு அடைந்த விருந்தோம்பியை அடையாளம் காணுதல்

மறு இணைவு DNAக்களைக் கொண்ட வெக்டார்களையும், விருந்தோம்பி பாக்டீரியாக்களையும் ஒன்றாகக் கலக்கும்போது, அனைத்து பாக்டீரியாக்களுமே தம்முள் மறுஇணைவு DNAவைக் கொண்ட வெக்டாரை எடுத்துக் கொள்ளும் என்பதில்லை. சில பாக்டீரியாக்களில்

வெக்டார் நுழைந்து இருக்கலாம், பல பாக்டீரியாக்களில் நுழையாமல் இருக்கலாம், எந்தெந்த விருந்தோம்பிகள் மறு இணைவு DNAவை தம்முள் எடுத்துக் கொண்டுள்ளது என அடையாளம் காண்பது ஜீன் குளோனிங்கின் இறுதி நிலை ஆகும். அந்த மாற்றமடைந்த குளோன்களை அடையாளம் கண்டு தேர்ந்தெடுப்பதற்கு பல முறைகள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

(a) மறு இணைவு அடைந்த வெக்டாரைத் தேர்ந்தெடுத்தல்: வெக்டார்கள் அயல் DNAவை தம்முடன் எடுத்துக்கொண்டுள்ளதா, இல்லையா என்பதை முதலில் கண்டறிய வேண்டும். வெக்டார் ஜீன்களின் சில பண்புகள் இந்த கண்டறிதலுக்கு உதவுகின்றன. பிளாஸ்மிட்களை வெக்டார்களாகப் பயன்படுத்தும்போது வெக்டாரின் உயிர் எதிர்ப்பொருள் திறனில் (antibiotic resistance) ஏற்படும் மாற்றம் மூலம் இதை கண்டறியலாம். எ.கோலி பிளாஸ்மிடிலிருந்து வடிவமைக்கப்பட்ட pBR322 எனப்படும் பிளாஸ்மிடில் உயிர் எதிர்ப்பொருட்களைக் கொண்ட ஜீன்கள் காணப்படுகின்றன (படம் 9.10.). அயல் DNA இந்த பிளாஸ்மிடுடன் இணையும்போது அவற்றின் உயிர் எதிர்ப்பொருள் திறனில் மாற்றங்கள் உண்டாகும். அதன் மூலம் அந்த வெக்டாரை எளிதாக அடையாளம் காண முடியும். pBR322 பிளாஸ்மிட் ஆம்பிசிலின் எதிர்ப்பு திறனுக்கான ஜீனையும் டெட்ராசைக்ளின் எதிர்ப்புத் திறனுக்கான ஜீனையும் பெற்றுள்ளது.

pBR 322 பிளாஸ்மிடின் அமைப்பு: பொதுவாக பாக்டீரியாக்களை உயிர் எதிர்ப்பொருட்கள் தாக்கினால் அந்த உயிர் எதிர்ப்பொருட்களை எதிர்க்கும் திறன் இல்லாததால் பாக்டீரியாக்கள் இறந்துவிடும். pBR322 பிளாஸ்மிடுகளை தம்முள் எடுத்துக்கொண்டால் பாக்டீரியா, டெட்ராசைக்ளின் மற்றும் ஆம்பிசிலின் ஆகிய இரு உயிர் எதிர்ப்பொருட்களையும் எதிர்க்கும் திறன் பெற்றுவிடுகின்றன. ஆகவே இப்போது உயிர் எதிர்ப்பொருட்கள் பாக்டீரியாக்களைத் தாக்கினால் பாக்டீரியாக்கள் இறந்து போகாது.

ஆம்பிசிலினை எதிர்க்கும் ஜீனில் காணப்படும் PSt I (restriction site) என்ற இடத்தில் அயல் DNA நுழைந்துவிட்டால், பிளாஸ்மிடின், ஆம்பிசிலினை எதிர்க்கும் திறன் மறைந்துவிடும். ஆனால் டெட்ராசைக்ளினை கொண்ட ஒரு வளர் ஊடகத்தில் இட்டால், அவை பெருக்கமடைந்து காலனியை உருவாக்கும். pBR322 பிளாஸ்மிடுகளைத் தம்முள் எடுத்துக் கொள்ளாத பாக்டீரியாக்கள், டெட்ராசைக்ளின் கலந்த வளர் ஊடகத்தில் காலனிகளை உருவாக்காது. ஏனெனில் டெட்ராசைக்ளின் பாக்டீரியாக்களை அழித்துவிடும்.

பாக்டீரியாக்களை ஆம்பிசிலின் கலந்த மற்றொரு வளர் ஊடகத்தில் இட்டால், அந்த பாக்டீரியாக்கள் காலனிகளை உருவாக்காது. எனெனில் அயல் DNA ஆம்பிசிலின் ஜீனுடன்

இணைந்து அவற்றை செயலற்றதாக்கிவிட்டதால், அந்த ஜீனால் இப்போது ஆம்பிசிலினை எதிர்க்க முடியாது. எனவே ஆம்பிசிலின் அந்த பாக்டீரியாக்களை அழித்துவிடும். அதே போல Bam H1 இடத்தில் அயல் DNA நுழைந்துவிட்டால் பிளாஸ்மிடின் டெட்ராசைக்ளின் எதிர்க்கும் திறன் மறைந்துவிடும். ஆனால் ஆம்பிசிலினை எதிர்க்கும் திறனில் எந்த மாற்றமும் நிகழாது.

மேலே விவரித்த சோதனைகளிலிருந்து எந்த பாக்டீரியாக்கள் அயல் DNA கொண்ட பிளாஸ்மிடுகளை (அதாவது கலப்பின பிளாஸ்மிடு) தம்முன் கொண்டுள்ளன என்பதை எளிதாக இனமறிந்து கொள்ளலாம்.

படம் 9.10 pBR 322 பிளாஸ்மிட் வரைபடம்

(b) மறு இணைவு குளோன்களைத் தேர்ந்தெடுத்தல்: மறு இணைவு குளோன்களைக் கண்டுபிடிக்க பல முறைகள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

(1) மரபியல் முறை (genetic method)

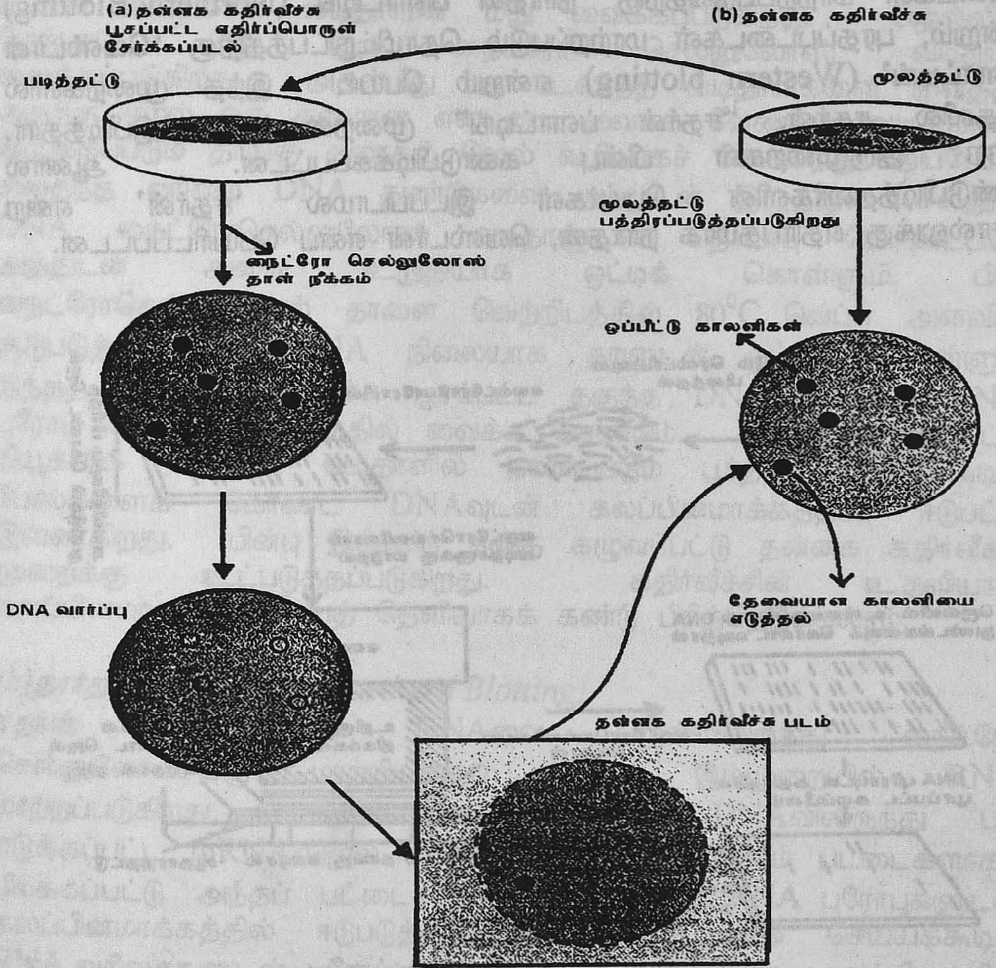
அயல் DNA தம்மை வெளிப்படுத்திக் கொள்வதை அடிப்படையாகக் கொண்டது இம்முறை. பிளாஸ்மிடின் உணவூட்ட மரபியல் அடையாளக்

குறியீடு (nutritional marker) மறுஇணைவு குளோன்களைத் தேர்ந்தெடுக்கப் பயன்படுகிறது. பாக்டீரியாக்களின் ஒரு வகை இனக்கூற்றில் (strain), அவை வளர்வதற்குத் தேவையான ஒரு குறிப்பிட்ட வளர்ச்சிக் காரணி உற்பத்தி செய்யப்படுவதில்லை. இதற்குக் காரணம் ஒரு குறிப்பிட்ட வகைப் புரதம் கிடைக்காததுதான். இப்புரதம் கிடைக்காததற்குக் காரணம், அதை உற்பத்தி செய்யும் DNAவில் காணப்படும் குறைபாடாகும். இவ்வகை பாக்டீரியாக்களை வளர் ஊடகத்தில் வளர்க்கும்போது ஊடகத்தில் வளர்ச்சிக் காரணி சேர்க்கப்பட வேண்டும். இந்த பாக்டீரியாக்களில் ஏதாவது ஒன்று வளர்ச்சிக் காரணியை உருவாக்க உதவும் அயல் DNAவை எடுத்துக் கொண்டால் அந்த பாக்டீரியா வளர் ஊடகத்தில் அந்த வளர்ச்சிக் காரணி இல்லாவிட்டாலும்கூட வளரத் துவங்கிவிடும். இம்மாதிரி மாறுபாடடைந்த பாக்டீரியாக்களை வளர்ச்சிக் காரணி சேர்க்கப்படாமல் இருக்கும் வளர் ஊடகத்திலிருந்து தேர்ந்தெடுக்கலாம்.

(2) தடைகாப்பு வேதியல் முறை (immuno chemical method)

உள்ளே நுழைந்த அயல் DNA தம்மை வெளிப்படுத்திக் கொள்வதின் அடிப்படையிலேயே இம்முறையும் உருவாக்கப்பட்டுள்ளது (படம் 9.11.). மாற்றமடைந்த செல்களை ஒரு அகார் தட்டில் உள்ள வளர் ஊடகத்தில் இட்டு, ஒவ்வொரு செல்லும் ஒரு காலனியை உருவாக்குமாறு வளர்க்கப்படுகிறது. இதற்கு மூலத்தட்டு (master plate) என்று பெயர். பின்பு ஒரு நைட்ரோ செல்லுலோஸ் வடிதாளை எடுத்து மூலத்தட்டின் மீது படியுமாறு லேசாக அழுத்த வேண்டும். மூலத்தட்டின் காலனிகளில் உள்ள பாக்டீரியாக்களில் சில இத்தட்டில் ஒட்டிக் கொள்ளும். இதற்கு படித்தட்டு (replica plate) என்று பெயர். மூலத்தட்டு, படித்தட்டு ஆகிய இரண்டிலும் பாக்டீரியாக்களின் காலனிகள் ஒரே அமைவிடத்தில் காணப்படும். இந்த நைட்ரோ செல்லுலோஸ் படித்தட்டை ஒரு வளர் ஊடகத்தின் மீது வைத்து விட வேண்டும். படித்தட்டில் வளரும் செல்கள் வளர் ஊடகத்திலிருந்து உணவைப் பெற்று வளர்கின்றன. நன்கு வளர்ந்தபின் குளோரோபார்ம் ஆவி அல்லது அதிக வெப்பத்தின் உதவியால் படித்தட்டிலிருக்கும் செல்கள் உடைக்கப்படுகின்றன. இந்த செல்களிலிருந்து வெளிப்படும் DNA ஒரு புரத உருவாக்கத்தைத் துவக்குகிறது. இப்புரதம் ஆண்டிஜன்(antigens) எனப்படுகிறது. ஒரு பாலிவினைல் தாளில் கதிர் வீச்சு ஏற்றப்படாத எதிர்பொருள் (antibodies) பூசப்பட்டு, அத்தாள் படித்தட்டின் மீது வைக்கப்படுகிறது. ஆண்டிஜன் உற்பத்திக்குத் தேவையான அயல் DNAவை தம்முள் எடுத்துக் கொண்டு ஆண்டிஜனை உற்பத்தி செய்த காலனிகளின் ஆண்டிஜன் இப்போது பாலிவினைல் தாளில் பூசப்பட்ட எதிர் பொருளுடன் இணைகிறது. இந்தத்தாளை அச்சுத் தட்டிலிருந்து நீக்கி, பின்பு மற்றொரு கதிர்வீச்சு ஏற்றப்பட்ட எதிர்பொருள் பூசப்பட்ட, பாலிவினைல் தாளுடன் ஒட்டி வைக்கப்படுகிறது. ஆண்டிஜன்கள்,

கதிர்வீச்சு ஏற்றப்பட்ட எதிர் பொருளுடன் ஒட்டிக் கொள்கிறது. பின்பு இந்த பாலிவினைல் தாள் தன்னகக் கதிர் வீச்சுக்கு (auto radiography) உட்படுத்தப்படுகிறது. ஆண்டிஜனும் எதிர்ப்பொருளும் இணைந்த இடங்கள் தெளிவாகத் தெரிகின்றன. இந்த இடங்கள் நமக்குத் தேவையான DNAவைக் காட்டுகிறது. இதை மூலத்தட்டுடன் ஒப்பிட்டு, தேவையான பாக்டீரியா காலனிகளைத் தனியே பிரித்து எடுத்து, குளோன் செய்யலாம்.

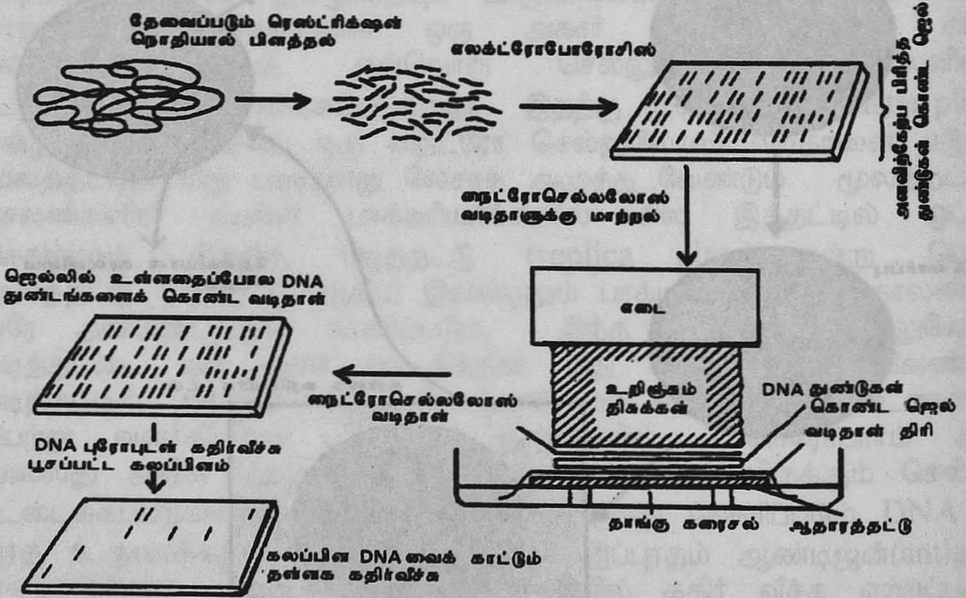


படம் 9.11. தடைகாப்பு வேதியல் முறை

(3) நியூக்ளிக் அமிலம் கலப்பினமாக்க முறை (nucleic acid hybridization technique)

DNA, RNA அல்லது புரத துண்டுகளை ஜெல் எலெக்ட்ரோபோரசிஸ் முறை மூலம் பிரித்து, அவற்றின் பட்டைகளை சாயமேற்றிப் பார்க்கலாம்.

இருப்பினும், அந்தப் பட்டைகளை சரியாக அடையாளம் காணவேண்டுமெனில், அவற்றை ஏற்கெனவே தெரிந்த கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட ஒரு மூலக்கூறு புரோபுடன் கலப்பினமாக்கத்தில் ஈடுபடுத்த வேண்டும். இந்த கலப்பினமாக்கத்தைச் செய்வதற்காக அந்த பட்டைகள் ப்ளாட்டிங் (ஒற்றுதல்) எனப்படும் தொழிட்நுட்பம் மூலம் ஒரு நைட்ரோசெல்லுலோஸ் படலத்திற்கு மாற்றப்படுகிறது. DNA பட்டைகள் இவ்வாறு ஒற்றப்படுவதற்கு 'சதர்ன் பிளாட்டிங்' (Southern Blotting) (இதை C.M. சதர்ன் 1975ல் கண்டுபிடித்தார்) என்று பெயர். RNA பட்டைகள் மாற்றப்படுவதற்கு 'நார்தன் பிளாட்டிங்' (Northern Blotting) என்றும், புரதப்பட்டைகள் மாற்றப்படும் தொழிட்நுட்பத்திற்கு 'வெஸ்டர்ன் பிளாட்டிங்' (Western blotting) என்றும் பெயர். இந்த முறைகளில் முதலில் சதர்ன், "சதர்ன் ப்ளாட்டிங்" முறையைக் கண்டுபிடித்தார். மற்ற இருமுறைகள் பின்பு கண்டுபிடிக்கப்பட்டன. ஆனால் கண்டுபிடித்தவர்களின் பெயர்கள் இடப்படாமல் 'சதர்ன்' என்ற சொல்லுக்கு எதிர்பதமாக நார்தன், வெஸ்டர்ன் எனப் பெயரிடப்பட்டன.



படம் 9.12.சதர்ன் பிளாட்டிங் முறை

a) சதர்ன் பிளாட்டிங் முறை (Southern blotting)

DNA கலப்பினமாக்கத்தை சதர்ன் பிளாட்டிங் நுட்பம் மூலம் ஜெல் எலெக்ட்ரோபோரசிஸை பயன்படுத்திச் செய்யலாம் (படம் 9.12.).

இம்முறையில் முதலில் அயல் DNAவை ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் நொதி மூலம் சிறு துண்டுகளாக ஆக்க வேண்டும். இப்போது இச்சிறு துண்டுகளை ஒரு அகரோஸ் ஜெல்லில் எலெக்ட்ரோபோரசிஸிற்கு உட்படுத்த வேண்டும். பின் இந்த ஜெல்லை சோடியம் குளோரைட் சோடியம் ஹைட்ராக்ஸைட் (SSC) திரவம் கொண்ட ஒரு கிண்ணத்திற்கு மாற்ற வேண்டும் (படம் 9.17.). இவற்றின் செயலால் DNA சிதைக்கப்படுகிறது. பின்பு ஜெல் நன்கு கழுவப்பட்டு, நிலைநிறுத்தப்பட்டு SSC தாங்கு திரவம் கொண்ட ஒரு கிண்ணத்தில் உள்ள வட்டமான வடிதாளின் மீது வைக்கப்படுகிறது. ஜெல்லின் மேற்பரப்பு மீது ஒரு நைட்ரோ செல்லுலோஸ் வடிதாள் வைக்கப்படுகிறது. அதன்மீது பல உலர்ந்த வடிதாள்களை வைத்து, அதற்கு மேல் ஒரு கனமான எடையை வைக்க வேண்டும். வடிதாளால் இழுக்கப்படும் தாங்கு கரைசல் ஜெல் வழியாகச் செல்கிறது. அப்போது சிதைந்த ஓரிழை DNA துண்டுகளை தம்முடன் இழுத்துச் செல்லும். DNA நைட்ரோசெல்லுலோஸ் வடிதாளுடன் தொடர்பு கொண்டபின், அத்துடன் அவை உறுதியாக ஒட்டிக் கொள்ளும். பின் நைட்ரோசெல்லுலோஸ் தாளை வெற்றிடத்தில் 80^0C வெப்ப அளவில் சூடுபடுத்தும்போது, DNA நிலையாக தாளுடன் ஒட்டிக் கொள்ளும் இந்தத் தாளை கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட தகுந்த DNA அல்லது RNA புரோப் கொண்ட திரவத்தில் வைக்க வேண்டும். கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட நியூக்ளிக் அமிலம், வடிதாளில் காணப்படும் பூர்த்தி செய்யக்கூடிய பேஸ்களைக் கொண்ட DNAவுடன் கலப்பினமாக்கத்தில் ஈடுபட்டு இணைகிறது. பின்பு இத்தாள் நன்கு கழுவப்பட்டு தன்னக கதிர்வீச்சு முறைக்கு உட்படுத்தப்படுகிறது. கதிர்வீச்சின் உதவியால் கலப்பினமான பகுதியைத் தெளிவாகக் கண்டு பிரித்தெடுக்கலாம்.

(b) நார்தன் பிளாட்டிங் (Northern Blotting)

சதர்ன் பிளாட்டிங்கில் DNAவை ஜெல்லிலிருந்து நைட்ரோ செல்லுலோஸுக்கு மாற்றியதைப் போல, இம்முறையில் RNA மாற்றப்படுகிறது. குளோன் செய்யப்பட்ட DNAவிலிருந்து படி எடுக்கப்பட்ட mRNA ஜெல் எலெக்ட்ரோபோரசிஸ் மூலம் பட்டைகளாகப் பிரிக்கப்பட்டு அந்தப் பட்டைகள் DNA அல்லது RNA புரோபுகளுடன் கலப்பினமாக்கத்தில் ஈடுபடுத்தப்படுகின்றன. பூர்த்தி செய்யக்கூடிய RNA வரிசைகளுடன் புரோப் கலப்பினத்தில் ஈடுபடுகிறது. கலப்பினத்தில் ஈடுபடாத புரோபுகள் நீக்கப்படுகின்றன. பின் கலப்பினமாக்கப்பட்ட நைட்ரோசெல்லுலோஸ் தாளைத் தன்னகக் கதிர்வீச்சுக்கு உட்படுத்தினால், கலப்பினமான பகுதிகள் தெளிவாகத் தெரியும்.

(c) வெஸ்டர்ன் பிளாட்டிங் (Western Blotting)

இம்முறை குறிப்பான புரதங்களை அடையாளம் காண உதவுகிறது. குளோன் செய்யப்பட்ட ஜீன், மாற்றமடைந்த செல்களில் தம்மை

வெளிப்படுத்தும்போது குறிப்பிட்ட வகை புரதங்களை உற்பத்தி செய்யத் துவங்குகிறது. அந்தப் புரதங்களை இம்முறை மூலம் அடையாளம் காணலாம். உற்பத்தி செய்யப்பட்ட புரதங்கள் பிரித்தெடுக்கப்பட்டு பாலி அக்ரிலமைட் ஜெல் எலக்ட்ரோபோரசிஸிற்கு (PAGE) உட்படுத்தப்படுகிறது. பின்பு இது நைட்ரோசெல்லுலோஸ் தாளுக்கு மாற்றப்படுகிறது. அங்கு அது தாளுடன் நன்கு இணைந்து கொள்கிறது. நைட்ரோ செல்லுலோஸ் தாளுடன் ஒட்டிக் கொண்டிருக்கும் புரதம் குறிப்பிட்ட வகை கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட எதிர் பொருட்களுடன் இணைப்பில் ஈடுபடுத்தப்படுகிறது. எதிர்பொருள் புரதத்துடன் கலப்பினத்தில் ஈடுபடாது. மாறாக அத்துடன் இணைந்து கொள்ளும். எதிர் பொருட்கள் ^{125}I ஆல் கதிர்வீச்சு பூசப்பட்டு, தன்னக கதிர்வீச்சு முறையால் அடையாளம் காணப்படுகிறது.

(d) டாட் பிளாட் (புள்ளி பிளாட்) & ஸ்லாட் பிளாட் (குறுகிய துளை பிளாட்) (dot blot and slot blot) முறைகள்

சதர்ன் மற்றும் நார்தன் பிளாட் முறைகளின் மாற்று வகைகள் இவை. டாட் பிளாட் முறையில் குளோன் செய்யப்பட்ட DNA, வரிசையாக புள்ளிகளாக நைட்ரோசெல்லுலோஸ் தாளில் வைக்கப்பட்டு, அசையாமல் சிதைக்கப்படுகிறது. பின் இது கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட DNA அல்லது RNA புரோபுகளால் கலப்பினத்தில் ஈடுபடுத்தப்படுகிறது. தன்னக கதிர்வீச்சில் ஈடுபடுத்தும்போது, கலப்பினமான DNA தெளிவான புள்ளியாகத் தெரியும். ஸ்லாட் பிளாட் முறையும் இது போன்றதே. ஆனால் DNAக்கள் புள்ளிகளாக வைக்கப்படாமல் குறுகிய நீண்ட துவாரங்களில் (blot) வைக்கப்பட்டு சோதனை நடத்தப்படுகிறது. இவை மிக எளிய முறைகளாகும்.

பாலிமரேஸ் சங்கிலி வினை (PCR) (Polymerase Chain Reaction) சார்ந்த குளோனிங்

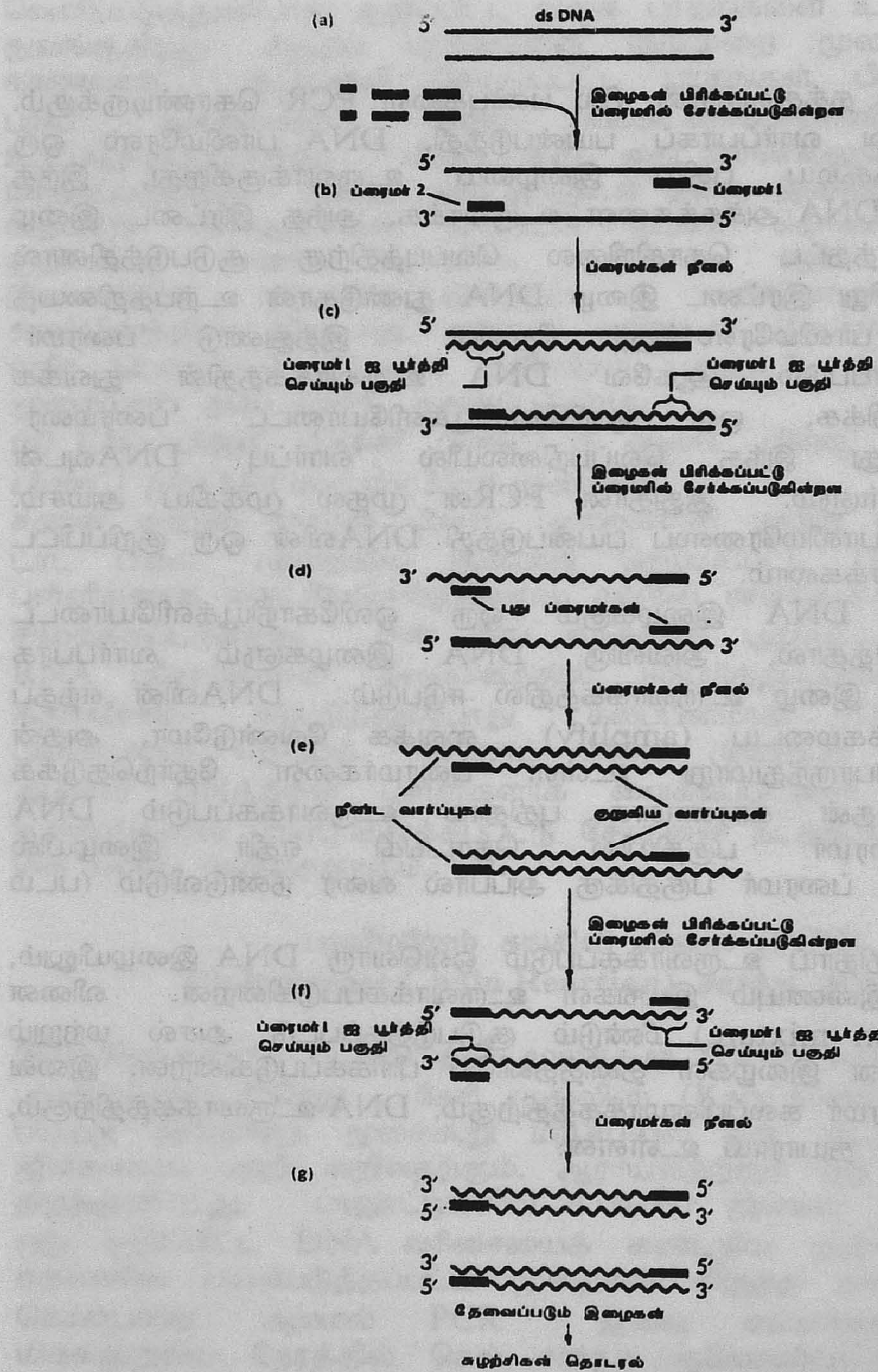
இயந்திரங்களைப் பயன்படுத்தி மூலக்கூறு (DNA) குளோனிங்கில் PCR பயன்படுத்தப்படுகிறது. கேரி முல்லிஸ் (Kary Mullis) 1984ல் கண்டு பிடித்த இம்முறை, மூலக்கூறு மரபியலில் ஒரு புரட்சியை ஏற்படுத்தி, ஜீன்களைப் பற்றி அறிவதற்கும், ஆராய்வதற்கும் ஒரு புதிய வழியைத் திறந்துவிட்டது. பாலூட்டிகளில் 1,00,000 ஜீன்கள் காணப்படுகின்றன. ஒரு குறிப்பிட்ட DNA வரிசையைக் கண்டறிய மூலக்கூறு மரபியலில் ஏற்கனவே பயன்படுத்தப்பட்ட முறைகள் மிகுந்த காலத்தை எடுத்துக் கொள்பவை. ஆனால் PCR இவை எல்லாவற்றையும் மாற்றி, மிகக்குறுகிய நேரத்தில் செல் சார்ந்த குளோனிங்கில் ஈடுபடாமலேயே ஒரு குறிப்பிட்ட DNA வரிசையின் ஆயிரக்கணக்கான நகல்களை உருவாக்கித்தரும். மேலும் இதன் பயன்பாடுகளும் மகத்தானது.

PCR தத்துவம்

DNA இரட்டித்தல் தத்துவத்தின் சில பண்புகளை PCR கொண்டிருக்கும். ஓரிழை DNAவை வார்ப்பாகப் பயன்படுத்தி, DNA பாலிமரேஸ் ஒரு பூர்த்தி செய்யக்கூடிய புதிய இழையை உருவாக்குகிறது, இந்த இரட்டை இழை DNA அச்சுக்களை உருவாக்க, அந்த இரட்டை இழை DNAவை கிட்டத்தட்ட கொதிநிலை வெப்பத்திற்கு சூடுபடுத்தினால் போதும். ஒரு சிறு இரட்டை இழை DNA துண்டுதான் உற்பத்தியைத் துவக்க DNA பாலிமரேஸுக்குத் தேவை. இத்துண்டு 'ப்ரைமர்' (primer) எனப்படும். ஆகவே DNA உருவாக்கத்தின் துவக்க இடத்தைக் குறிக்க, ஒரு ஒலிகோநியூக்ளியோடைட் 'ப்ரைமரை' அளித்தால், அது இந்த வெப்பநிலையில் 'வார்ப்பு' DNAவுடன் இணைந்து கொள்ளும். இதுதான் PCRன் முதல் முக்கிய அம்சம். அதாவது, DNA பாலிமரேஸைப் பயன்படுத்தி DNAவின் ஒரு குறிப்பிட்ட பகுதியை உருவாக்கலாம்.

ஒவ்வொரு DNA இழைக்கும் ஒரு ஒலிகோநியூக்ளியோடைட் ப்ரைமரை அளித்தால், அவ்விரு DNA இழைகளும் வார்ப்பாக செயல்பட்டு புது இழை உருவாக்கத்தில் ஈடுபடும். DNAவின் எந்தப் பகுதியை பெருக்கமடைய (amplify) வைக்க வேண்டுமோ, அதன் பக்கவாட்டில் பொருந்துமாறு உள்ள ப்ரைமர்களை தேர்ந்தெடுக்க வேண்டும். இதன் காரணமாக புதிதாக உருவாக்கப்படும் DNA இழைகள், ப்ரைமர் பகுதியில் தொடங்கி எதிர் இழையில் இணைந்திருக்கும் ப்ரைமர் பகுதிக்கு அப்பால் வரை நீண்டுவிடும் (படம் 9.13.).

ஆகவே புதிதாய் உருவாக்கப்படும் ஒவ்வொரு DNA இழையிலும், புதிய ப்ரைமர் இணையும் இடங்கள் உருவாக்கப்படுகின்றன. வினை கலவை (reaction mixture) மீண்டும் சூடுபடுத்தப்பட்டு அசல் மற்றும் புதிதாய் உருவான இழைகள் தனித்தனியே பிரிக்கப்படுகின்றன. இவை அடுத்தடுத்த ப்ரைமர் கலப்பினமாக்கத்திற்கும், DNA உருவாக்கத்திற்கும், இழைபிரிவதற்கும் தயாராய் உள்ளன.



படம் 9.13. பாலிமரேஸ் சங்கிலி வினை

PCRன் ஒட்டு மொத்த முடிவான *n* சுழற்சிகளில், அதிகபட்சமான *2n* இரட்டை இழை DNA மூலக்கூறுகள், அதாவது ப்ரைமர்கட்கு இடையே உள்ள DNA வரிசையின் நகல்கள் உருவாகின்றன. இது PCRன் இரண்டாவது முக்கிய அம்சம், அதாவது ஒரு குறிபிட்ட பகுதி "பெருக்கமடைகிறது".

PCR தொழிட்நுட்பம்

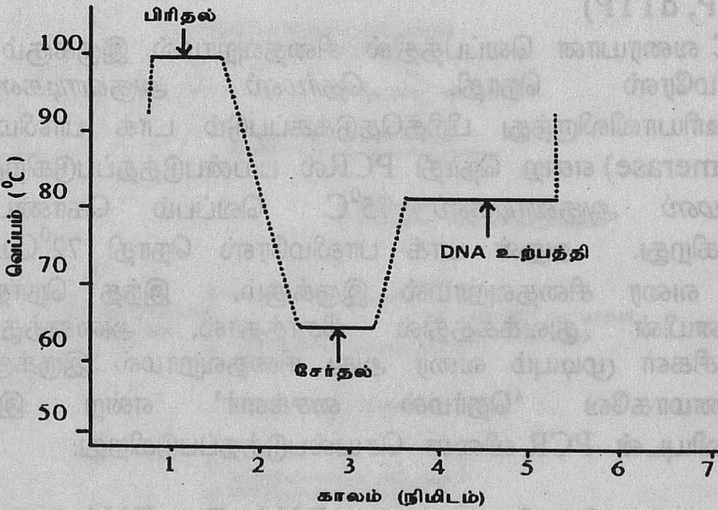
PCR க்குத் தேவையானவை:

1) தேவையான DNA (100-35000 bp நீளம்) மொத்த ஜீனோம் DNAவில், ஒரு மைக்ரோகிராமிற்கும் குறைவான DNA போதுமானது.
2) தேவையான DNAவின் பக்கவாட்டில் உள்ள DNA வரிசைகளைப் பூர்த்தி செய்யுமாறு வரிசைகளைக் கொண்ட இரு ப்ரைமர்கள் (17-30 நியூக்ளியோடைட்கள் நீளம் கொண்ட செயற்கையாய் உருவாக்கப்பட்ட ஒலிகோநியூக்ளியோடைட்கள்).
3) நான்கு டி-ஆக்ஸி-ரிபோநியூக்ளியோடைட்கள் (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)
4) 95^{0}C வரையான வெப்பத்தில் சிதைவுறாமல் இருக்கும் ஒரு DNA பாலிமரேஸ் நொதி. *தெர்மஸ் அகுவாடிகஸ்* எனும் பாக்டீரியாவிலிருந்து பிரித்தெடுக்கப்படும் டாக் பாலிமரேஸ் (Taq polymerase) என்ற நொதி PCRல் பயன்படுத்தப்படுகிறது.
5) *தெர்மஸ் அகுவாடிகஸ்* 75^{0}C வெப்பம் கொண்ட நீரூற்றில் வாழ்கிறது. அதன் டாக் பாலிமரேஸ் நொதி 72^{0}Cயில் இருந்து 94^{0}C வரை சிதைவுறாமல் இருக்கும். இந்த நொதியை PCR வினையின் துவக்கத்தில் சேர்த்தால், அனைத்து பெருக்க சுழற்சிகள் முடியும் வரை அது சிதைவுறாமல் இருக்கும். இதன் காரணமாகவே **'தெர்மல் சைக்ளர்'** என்ற இயந்திரத்தின் உதவியுடன் PCR வினை செயல்படுத்தப்படுகிறது.

வினை கலவையில் தேவைப்படும் DNA, இரு DNA ப்ரைமர்கள், Taq DNA பாலிமரேஸ் நொதி, 4 டி-ஆக்ஸிரிபோ நியூக்ளியோடைட்கள் சேர்க்கப்படுகின்றன. இக்கலவையின் அளவு 100 μl இருக்கும். PCR தொழிட்நுட்பத்தில் தேவைப்படும் DNAவை பெருக்கமடைய வைக்க மீண்டும் மீண்டும் சுழற்சியாக வரும் நிகழ்ச்சிகள் பயன்படுகின்றன. ஒவ்வொரு சுழற்சியும் 3 நிலைகளைக் கொண்டது.

1) **சிதைவு (பிரிதல்-denaturation)**: 94^0Cயில் . 5 நிமிடங்கட்கு வெப்பத்தை உயர்த்தும்போது DNA பிரிந்து இரு இழைகள் தனித்தனியே உருவாகின்றன.
2) **மீண்டும் இணைதல் அல்லது ஒட்டுதல்** (renaturation or annealing): வெப்பம் 55^0C ($30-65^0C$), 30விநாடிகள் என்ற அளவிற்கு குறைக்கப்படும்போது தேவைப்படும் DNA இழைகளின் பக்கவாட்டுப் பகுதிகளிலுள்ள பூர்த்தி செய்யக்கூடிய பகுதியில் ப்ரைமர்கள் இணைகின்றன. இந்நிகழ்ச்சிக்கு மீண்டும் இணைதல் அல்லது ஒட்டுதல் என்று பெயர்.
3) **உருவாக்கம்**: ஒவ்வொரு ப்ரைமரின் 3' ஹைட்ராக்சில் முனையில் DNA உருவாக்கம் துவங்குகிறது. DNA இழைகளைப் பூர்த்தி செய்யும் பேஸ்கள் இணைவதன் மூலம் ப்ரைமர் நீட்சி அடைகிறது. வினையை நிறுத்த வெப்பத்தை மீண்டும் 95^0C அளவிற்கு உயர்த்த வேண்டும்.

வெப்பம் மற்றும் காலத்தொடர்பு கொண்ட PCRன் 3 நிலைகள் படம் 9.14.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது. ஒவ்வொரு PCR சுழற்சியும் 3-5 நிமிடங்களை எடுத்துக் கொள்கின்றன.



படம் 9.14. வெப்பம், காலம் தொடர்பான PCR ன் நிலைகள்

படம் 9.13.ல் PCR சுழற்சிகள் விளக்கப்பட்டுள்ளன. சுழற்சி 1ல் ஒவ்வொரு ப்ரைமருடனும் இணைந்த புதிய DNA இழை இரண்டாவது ப்ரைமருக்கு (எதிர் இழையில் இணைந்துள்ள இரண்டாவது ப்ரைமருக்கு) அப்பாலுள்ள வரிசைகள் வரை நீண்டுவிடும். இந்த இழைகட்கு நீண்ட அச்சுகள் (long templates) என்று பெயர். இவைகள் இரண்டாவது சுழற்சிக்குப் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

இரண்டாவது PCR சுழற்சியில், DNA இழைகள் (அசல்+புதிதாய் உருவான நீண்ட அச்சுக்கள்) பிரிக்கப்பட்டு, ப்ரைமர்களுடன் இணைக்கப்பட்டு DNA உருவாக்கத்தில் ஈடுபடுத்தப்படுகிறது. இரண்டாவது சுழற்சியின் முடிவில் நீண்ட வார்ப்புகள் மற்றும் குறுகிய வார்ப்புகள் (ப்ரைமர் வரிசையை ஒரு முனையில் கொண்டு, மற்ற முனையில் உள்ள ப்ரைமருக்கு பூர்த்தி செய்யக்கூடிய வரிசையையும் கொண்டது) உருவாகின்றன.

மூன்றாவது PCR சுழற்சியில், அசல் DNA இழைகளும் நீண்ட மற்றும் குறுகிய வார்ப்புகளும், துவக்கப் பொருட்களாகப் பயன்படுகின்றன. பிரிதல், மீண்டும் இணைதல், உருவாக்கம் ஆகிய தொழில்நுட்பம் மீண்டும் மீண்டும் செயல்படுத்தப்படுகின்றன. ஒவ்வொரு சுழற்சியிலும் இச்செய்முறை திரும்பத் திரும்ப பயன்படுத்தப்படுகிறது. 32வது சுழற்சியின் முடிவில் தேவைப்படும் DNA ஒரு மில்லியன் அளவிற்கு பெருக்கமடைகிறது. தேவைப்படும் DNAவை இரட்டைஇழை மூலக்கூறுகளாகக் கொண்ட குறுகிய வார்ப்புகள் பெருக்கமடைந்து குவிந்து விடுகின்றன.

PCR தொழிட்நுட்பத்தில் மாற்றங்கள்

தேவைக்கேற்ப முதலில் கண்டுபிடிக்கப்பட்ட PCR தொழிட்நுட்பம் பல மாற்றங்களைக் கொண்டு பல காரணங்கட்காகப் பயன்படுத்தப் படுகின்றன. அவற்றில் சில:

நெஸ்டட் PCR: PCRல் சில சமயம் தேவைப்படாத DNAவும் பெருக்கமடையும்.அதைத் தவிர்க்க குறிப்பிட்ட பகுதிகளை மாத்திரம் பெருக்கமடைய வைக்கும் முறை இது.

தலைகீழ் PCR: இதில் தெரிந்த DNA வரிசையிலிருந்து தெரியாத DNA வரிசைகள் பெருக்கமடையச் செய்யப்படுகின்றன.

நங்கூர PCR: இதில் ஒரு நியூக்ளியோடைட் வரிசை தேவைப்படும் DNAவுடன் இணைக்கப்படுகிறது. அதாவது நங்கூரமிடப்படுகிறது. இம்முறை தேவைப்படும் DNAவைச் சுற்றியுள்ள வரிசை தெரியாதபோது பயன்படும்.

தலைகீழ் படியெடுத்தல் PCR: RNA மூலக்கூறுகளை பெருக்கமடைய வைக்க பயன்படும் முறை RT-PCR ஆகும். இதன் mRNA மூலக்கூறு முதலில் cDNAவாகத் தலைகீழாய் படிஎடுக்கப்படுகிறது. பின் cDNA, PCR க்கு வார்ப்பாகப் பயன்படுகிறது.

சமச்சீரற்ற PCR: ஓரிழை DNA மூலக்கூறுகளை உருவாக்கப் பயன்படும் முறை இது. இது DNAவை வரிசைப்படுத்தப் பயன்படும்.

ரியல்-டைம் அளவிடப்படும்(குவாண்டிடேடிவ்)PCR: மேலே விவரித்ததைப் போல PCR எளிய சுழற்சிகளில் நடைபெற்று முடிவதில்லை. செயல்படுத்தப்படும்போது ஏராளமான மாற்றங்கள் செய்யப்படுகின்றன. எதிடியம் புரோமைடு போன்ற ஒளிரும் தன்மை கொண்ட கூட்டுப்பொருட்களை DNAவுடன் இணைய வைத்து DNA அளவிடப்படும் முறை இது.

ராண்டம் ஆம்பிளிபைடு பாலிமார்பிக் DNA (RAPD) (குறிப்பற்ற பெருக்கமடையும் பல்லுரு DNA): RAPD முறையில் சிறிய ஒலிகோநியூக்ளியோடைட் ப்ரைமர்கள், ஜீனோம் முழுக்க காணப்படும் ஒரு செட் DNA துண்டுகளை பெருக்கமடைய வைக்க குறிப்பின்றி தேர்ந்தெடுக்கப்படுகின்றன.

ஆம்பிளிபைடு ஃப்ராக்மெண்ட் லென்த் பாலிமார்பிஸம் (AFLP): ஜீனோமிலுள்ள பல்லுருத் தோற்றத்தைக் கண்டறிய உதவும் மிகச்சிறந்த முறை இது.

cDNAமுனைகளை விரைவாக பெருக்கமடையவைக்கும் முறை (RACE): RT-PCRல் உருவாகும் cDNAவில் DNA வரிசைகள் முறையற்றதாய் இருக்கும். RACE முறையில் இப்பிரச்சனை சரிசெய்யப்படுகிறது.

PCR-ன் பயன்பாடுகள்

1. DNA வரிசைகளைக் கண்டறிய உதவுகிறது.
2. ஜீனோம்களின் ஒப்பீட்டு ஆராய்ச்சிக்கு உதவுகிறது. பரிணாம உயிரியலுக்கு மிகவும் உதவுகிறது. இம்முறை தற்போது 'பைலோஜெனிடிக்ஸ்' (இன வரலாற்று மரபியல்) எனப்படுகிறது.
3. படிமப்பொருட்கள், பல மில்லியன் வருடங்களுக்கு முன் பாதுகாக்கப்பட்ட திசு, எலும்புகள், ரோமம், போன்றவற்றிலிருந்து எடுக்கப்பட்ட DNAவைப் பெருக்கமடையச்செய்து அகழ்வாராய்ச்சி மற்றும் புதைபடிவ (palaeontology) ஆய்வுகளை புரட்சிகரமாக்கியுள்ளது. "ஜூராசிக் பார்க்" என்ற திரைப்படம் பாமரர்களுக்கும் PCRன் வலிமையை உணரவைத்தது.
4. சட்டம் சார்ந்த (forensic) மருத்துவத்துறையில் DNA விரல் தடயம் முறைமூலம் குற்றவாளிகள் கண்டறியப்படுகின்றனர்.

5. ஜீன் குளோனிங்கை குறைந்த நேரத்தில் மிக விரைவாக செயல்படுத்த உதவுகிறது.

6. குறிஇலக்கு திடீர்மாற்றம் (site directed mutagenesis) மூலம் DNA குறியீட்டு வரிசையை மாற்றி தேவைப்படும் புதிய புரதங்களை உருவாக்குவதற்கு PCR உதவுகிறது.

7. கருவில் உள்ள சிசுவின் பாலினத்தைக் கண்டறிய உதவுகிறது.

8. கருக்களில். பால் இணைந்த குறைபாடுகள் உள்ளனவா எனக் கண்டறிய உதவுகிறது.

9. ஜீன்களைக் கண்டறிய உதவுகிறது.

10. பாக்டீரியாக்கள் தாக்கத்தை கண்டறிய உதவுகிறது. (உ.ம். காச நோய்)

11. HIV தொற்றைக் கண்டறிய உதவுகிறது.

12. இரத்த செல் சோகை, தாலசீமியா போன்ற நோய்களைக் கண்டறிய உதவுகிறது.

10. மூலக்கூறு மரபியலில் உபகரணங்களும், நுட்பங்களும்
(Tools and Techniques in Molecular Genetics)



மூலக்கூறு மரபியல் ஆய்வுகட்கு பயன்படக்கூடிய பல்வேறு உபகரணங்கள் மற்றும் நுட்பங்கள் பற்றி இவ்வத்தியாயத்தில் பார்ப்போம். இவற்றை மூன்று பெரும் பிரிவுகளாகப் பிரிக்கலாம். அவையாவன:

1. மூலக்கூறு அடையாளக்குறிகள் (Molecular markers)
2. மூலக்கூறு புரோபுகள் (Molecular probes)
3. மூலக்கூறு கலப்பினமாக்கம் (Molecular hybridization)

ஒவ்வொன்றைப் பற்றியும் விரிவாகப் பார்க்கலாம்.

மூலக்கூறு அடையாளக்குறிகள் (Molecular Markers)

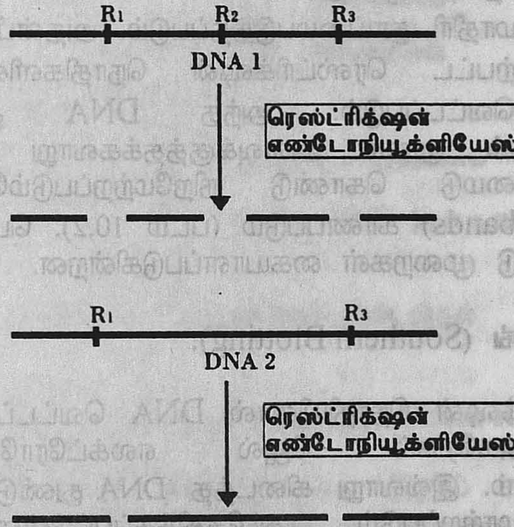
DNA தொடர்வரிசை, மூலக்கூறு அடையாளக் குறியாக பயன்படுத்தப்படுகிறது. மூலக்கூறு அடையாளக் குறியானது குரோமோசோம் வரைபடம் மற்றும் ஜீனோம்களின் ஜீன் வரைபடம் தயாரிக்கவும், நோய்களை கண்டறிவதற்கும் மற்றும் DNA விரல் தடயத்திற்கும் பயன்படுகிறது. கீழ்கண்ட DNA தொடர் வரிசைகள் அடையாளக்குறி (Marker) யாக உபயோகிக்கப்படுகின்றன.

1. வரையறுக்கப்பட்ட துண்டு நீள பல்உருதோற்றம் (Restriction Fragment Length Polymorphism -RFLP-ரி.ஃ.லிப்)
2. மினிசாட்டிலைட்கள் (Minisatellites) அல்லது மாறுபாடு எண்ணிக்கை திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் பேஸ்கள் (Variable Number Tandem Repeats -VNTRs – வின்டர்ஸ்)
3. நுண் சாட்டிலைட்கள் அல்லது எளிய திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் பேஸ்கள் (Simple Tandem Repeats STRs-எஸ்டிஆர்ஸ்)
4. ஒற்றை நியூக்ளியோடைட் பல்உருதோற்றம் (Single Nucleotide Polymorphisms -SNPs-ஸ்னிப்ஸ்)
5. அங்கொன்றும் இங்கொன்றுமாக பெரிதாக்கப்பட்ட பல்உருதோற்ற DNA (Random Amplified Polymorphic DNA -RAPD-ஆர்ஏபிடி-(ராபிட்)
6. DNA மைக்ரோஅரே (DNA microarray)
7. DNA விரல் தடயம் (Finger printing / DNA Profiling)

வரையறுக்கப்பட்ட துண்டு நீள பல்உருதோற்றம்
(Restriction Fragment Length Polymorphism -RFLP)

இது ஒரு குறிப்பிட்ட ஜீனின் வரைபட தயாரிப்பில் பயன்படுத்தப்படும் DNA தொடர்வரிசையாகும். இது ஒரு மனிதனின் குரோமோசோம்களில் பரவலாக (randomly) அமைந்துள்ளது அதற்கென தெளிவான பணி (function) கிடையாது.

ஒரு DNA மூலக்கூற்றை ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் நொதிகள் கொண்டு பல்வேறு துண்டுகளாக வெட்டமுடியும். அந்த துண்டுகள் பல்உருதோற்றங்கள் என்று அழைக்கப்படுகின்றன. RFLPயை கீழ்கண்டவாறு விளக்கலாம் (படம் 10.1.).



படம் 10.1. RFLP க்கள்

DNA மூலக்கூறு 1இல் R1,R2,R3 என்ற மூன்று ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்குகள் (restriction sites) உள்ளன. ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் கொண்டு வெட்டும்போது 4 DNA துண்டுகள் கிடைக்கும். DNA மூலக்கூறு 2இல் திடீர் மாற்றத்தால் சில பேஸ் இணைகளில் மாறுபாடுகள் காணப்படுகின்றன. இதன் விளைவாக R2 இலக்கு இல்லாமல் போய்விடுகிறது. ஆகவே DNA மூலக்கூறு 2ஐ ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் கொண்டு வெட்டும்போது 3 DNA

துண்டுகள்தான் கிடைக்கும். இவ்வாறாக ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதிகள் செயலினால் நீளமான DNA மூலக்கூறு பல வித நீள அளவுகள் கொண்ட துண்டுகளாக இருப்பது தெரியவருகிறது. ஆகவே இது RFLP என்று அழைக்கப்படுகிறது. இவ்வாறாக ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் கொண்டு இயற்கையில் உண்டாகும் மரபியல் வேறுபாடுகளைக் கண்டறிந்து ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் வரைபடங்கள் உருவாக்கலாம். மனிதனில் காணப்படும் புறத்தோற்ற வேறுபாடுகளை வைத்து உருவாக்கப்பட்ட ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் வரைபடங்கள் மூலம் தனிநபர் (individual) ஜீனோம்களுக்கிடையில் அநேக பல்உருதோற்றம் விளக்கப்பட்டுள்ளது. ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் இலக்குகளின் தன்மை மற்றும் அமைவிடத்தில் மாறுபாடுகள் உண்டாவதால்தான் பல்உரு தோற்றம் ஏற்படுகிறது.

RFLPயை கண்டறியும் முறை

முதலில் DNA மாதிரி தூய்மைபடுத்தப்படும். அதன்பின் ஒன்று அல்லது ஒன்றுக்கும் மேற்பட்ட ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதிகளினால் DNA பல துண்டுகளாக வெட்டப்படும். அந்த DNA துண்டுகள் ஜெல் எலக்ட்ரோபோரசிஸ் மூலம் அளவுக்குத்தக்கவாறு பிரித்தெடுக்கப்பட்டு எதிடியம் புரோமைடு கொண்டு நிறமேற்றப்படும்போது தெளிவான பட்டைகளாகக் (bands) காணப்படும் (படம் 10.2). பொதுவாக RFLPயை கண்டறிய இரண்டு முறைகள் கையாளப்படுகின்றன.

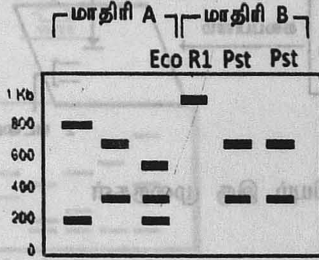
1.சதர்ன் ப்ளாட்டிங் (Southern Blotting):

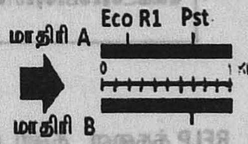
தகுந்த ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதியினால் DNA வெட்டப்படும். அந்த DNA துண்டுகள் அகரோஸ் ஜெல் எலக்ட்ரோபோரசிஸ் மூலம் பிரித்தெடுக்கப்படும். இவ்வாறு கிடைத்த DNA துண்டுகள் ஒரு நைலான் படலத்திற்கு மாற்றப்படும். சந்தேகிக்கப்பட்டுள்ள ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்குக்கு உகந்த DNA புரோப் அதில் சேர்க்கப்படும். அதன்பின் தன்னகக் கதிர்வீச்சு (autoradiography) மூலம் கலப்பினத்தில் ஈடுபட்ட பகுதிகளை பட்டைகளாகக் காணலாம். ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்கு இல்லாதிருந்தால் ஒரே ஒரு பட்டைதான் காணப்படும். ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்கு இருந்தால் இரு பட்டைகள் காணப்படும்.

A,Bமாதிரி DNA சேகரிப்பு

ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதியின் DNA கரைதல்

எலக்ட்ரோபோரோசிஸ்





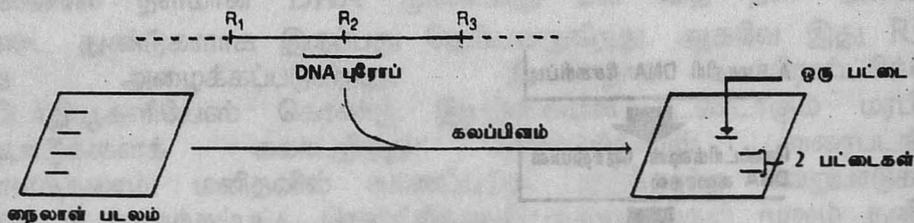
Eco R1 இடம் இழத்தலால் RFLP உருவாதல் (மாதிரி B)

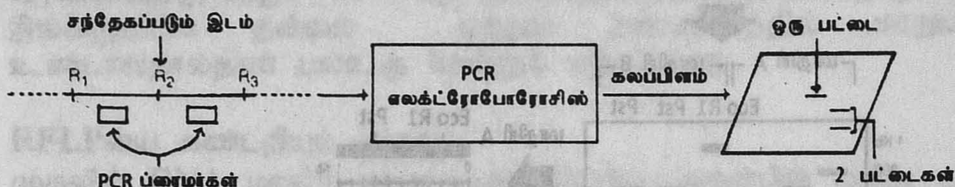
அல்லது Eco R1 இடம் உருவாதல் (மாதிரி A)

படம் 10.2. RFLPக்களை கண்டறிதல்

2. பாலிமரேஸ் சங்கிலி வினை (Polymerase Chain Reaction-PCR)

PCR மூலமும் RFLPயை கண்டறியலாம். இதில் சந்தேகிக்கப்பட்டுள்ள ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்கின் இருபுறத்திலும் இணையும் (anneal) PCR ப்ரைமர்கள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. முதலில் DNA மூலக்கூறு PCR முறைப்படி பெருக்கமடையச் செய்யப்பட்டு அகரோஸ் ஜெல் எலக்ட்ரோபோரசிஸ் மூலம் ஆராயப்படும். ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்கு இல்லாவிட்டால் ஒரே பட்டை மட்டும்தான் இருக்கும். ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்கு இருந்தால் இரு பட்டைகள் காணப்படும் (படம் 10.3.)



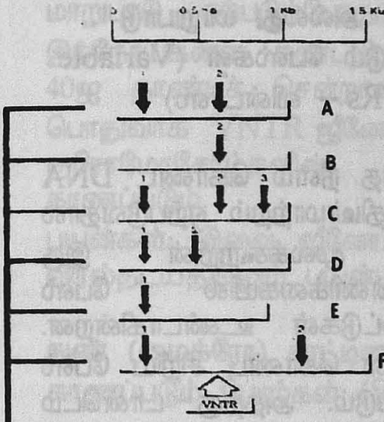


படம் 10.3. RFLP க்களை கண்டறியும் இரு முறைகள்

RFLP உண்டாகும் முறை

திடீர்மாற்றத்தினால் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் இலக்கு அமைவிடத்தில் மாறுபாடு ஏற்படுவதால் RFLP உண்டாகிறது. இரு ரெஸ்ட்ரிகஷன் இலக்குகளுக்கு இடைப்பட்ட தூரம் அங்குள்ள மினி சாட்டிலைட்டுகளின் எண்ணிக்கையைப் பொறுத்து இருக்கும். RFLP நடைபெறும் இடத்தைப் பொறுத்து **ஜீன்வெளி RFLP** (extragenic RFLP) மற்றும் **ஜீன்உள் RFLP** (intragenic RFLP) என RFLPயை இருவகைப்படுத்தலாம்.

பொதுவாக 10 சதவீத யூகேரியோட் ஜீனோம் தான் வெளிப்படுத்தப்படும் புரதத்துக்கு குறியீடு தருகிறது. ஆகவே அநேக RFLPக்கள் புரதத்திற்கு குறியீடு தரும் பகுதிகளுக்கு வெளிப்புறமாகக் காணப்படுகிறது. ஆகவே ஒரு செல் அல்லது ஒரு உயிரியின் இயல்பான புறத்தோற்றத்திலோ அல்லது உயிர்வேதியியலிலோ எந்த விளைவும் ஏற்படுத்தாது. ஜீனுக்கு வெளிப்புறம் நடைபெறும் RFLPக்கள் ஜீன்வெளி RFLPக்கள் என அழைக்கப்படுகின்றன. ஜீனிற்குள் நடைபெறும் RFLPக்கள் ஜீன்உள் RFLP என அழைக்கப்படுகின்றன. பொதுவாக ஜீன்வெளி RFLP அடையாளக்குறி (RELP marker) குறிப்பிட்ட குரோமோசோம் பகுதியில் ஒரு ஜீனின் இருப்பிடத்தை அறிய உபயோகிக்கப்படுகிறது. பின்னர் அந்த ஜீனை முழுவதும் நன்கு அறிந்த பின்பு, ஜீன்உள் RFLP அடையாளக்குறி அந்த ஜீனை கொடுக்கப்பட்டுள்ள இனக்கூட்டத்திற்குள் கொண்டுவர பயன்படுத்தப்படுகிறது.



A. 1,2 ஆகிய ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்குகள் கொண்ட DNA பகுதி

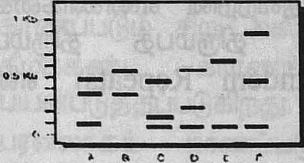
B. புள்ளி திடீர் மாற்றம் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்கு 1 ஐ நீக்குகிறது

C. புள்ளி திடீர் மாற்றம் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்கு 3 ஐ உருவாக்குகிறது

D. தொடர்வரிசை இடமாற்றம் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்கு 2 ஐ நகரச்செய்கிறது

E. ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்கு 2 ஐ கொண்ட பகுதியிலுள்ள தொடர்வரிசை நீக்கப்படுகிறது

F. தொடர்வரிசை புகுத்தப்படுகிறது(எ.கா.) VNTR ஏற்படல்



எலக்ட்ரோபோரோசிஸ் - சதர்ன் ப்ளாட்டிங்

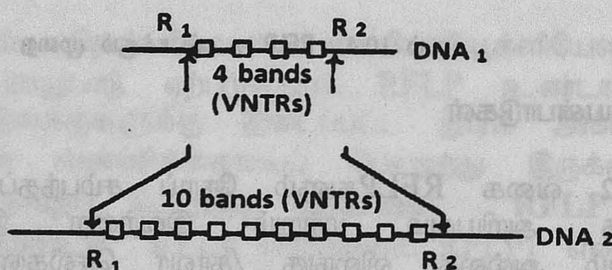
படம் 10.4. RFLP உண்டாக்கும் முறை

RFLPயின் பயன்பாடுகள்

மேற்கூறிய 2 வகை RFLPகளும் நோய் சம்பந்தப்பட்ட ஜீன்களின் இருப்பிடத்தை அறியவும் மற்றும் இவற்றை இனக்கூட்டத்திற்கு கொண்டுவரவும் அல்லது விலங்கு /தாவர செல்களுக்குள் மரபியல் தொழில்நுட்பத்தால் உட்புகுத்தப்பட்ட ஜீன்கள் விருந்தோம்பி செல்களின் ஜீனோமுடன் இணைவதைக் கண்காணிப்பதற்கும் பயன்படுகின்றன. RFLP மூலம் ஆண்டிபயாட்டிக் எதிர்ப்புத்திறனளிக்கும் பயனுள்ள ஜீன்களின் அமைவிடம் மற்றும் நோய்க்குக் காரணமாக இருக்கும் தீமை செய்யும் ஜீன்களின் அமைவிடம் ஆகியவற்றைக் கண்டறிய முடியும். இந்த நுட்பத்தின் மூலம் மனிதனில் இயற்கையாகவே உள்ள அல்லது மரபுப்பொறியியல் மூலம் உருவாக்கப்பட்ட ஜீன் பல்உருதோற்றத்தை கண்டறிய முடிகிறது.

மினிசாட்டிலைட்கள் (Minisatellites) அல்லது மாறுபாடு எண்ணிக்கை திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் பேஸ்கள் (Variable Number Tandem Repeats -VNTRs – வின்டர்ஸ்)

மினிசாட்டிலைட்டுகள் RFLP போல பலவித நீளம் கொண்ட DNA துண்டுகளாகும். ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்குகளில் திடீர்மாற்றம் ஏற்படுவதால் RFLP உண்டாகிறது. ஒரு DNA மூலக்கூற்றின் இரு புள்ளிகளுக்கிடையில் வேறுபட்ட எண்ணிக்கையில் பேஸ் தொடர்வரிசைகள் உள்ளதால் மினிசாட்டிலைட்டுகள் உண்டாகின்றன. பொதுவாக VNTRஇல் 10-100 பேஸ் இணைகள் கொண்ட சிறிய பேஸ் தொடர் வரிசைகள் திரும்ப திரும்ப காணப்படும். அதற்கு டான்டெம் (அங்கொன்றும் இங்கொன்றுமான) ரிப்பீட்ஸ் (tandem repeats) என்று பெயர். ஒரு குறிப்பிட்ட பகுதியில் காணப்படும் இவற்றின் எண்ணிக்கை மாறுபடுவதால் இது மாறுபாடு எண்ணிக்கை திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் பேஸ்கள் (Variable Number Tandem Repeats) என அழைக்கப்படுகிறது.



படம் 10.5. மினி சாட்டிலைட்கள்

ஒரு உயிரியின் ஜீனோமில் பல்வேறு VNTRம், RFLPயும் காணப்படுகின்றன. ஆவை அந்த உயிரிக்கே உரித்தான தனித்தன்மை கொண்டவை. இந்த VNTR மற்றும் RFLP அமைப்புதான் DNA விரல்தடயத்தின் அடிப்படையாக அமைகிறது.

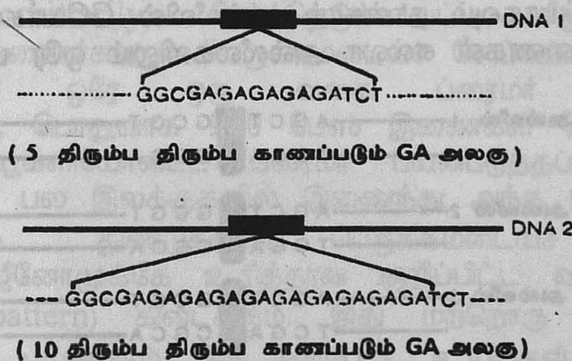
படம் 10.5.ல் வேறுபட்ட எண்ணிக்கை VNTR கொண்ட இரு DNA மூலக்கூறுகள் காணப்படுகின்றன. இந்த DNA மூலக்கூறுகள் R1 மற்றும் R2 இலக்குகளில் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் கொண்டு வெட்டப்படும்போது VNTR தொடர் வரிசைகள் விடுவிக்கப்படும். VNTR எண்ணிக்கை இரு DNA மூலக்கூறுகளிலும் வேறுபட்டு இருப்பதால் அவைகளை கண்டறிய முடியும். VNTRல்

மாறுபாடு ஏற்படும்போது சில மரபுநோய்கள் ஏற்படுகின்றன. VNTR இந்நோய்களை கண்டறிய பயன்படுகிறது. (உ.ம்.) VNTR எண்ணிக்கை 40ஐ தாண்டிச் சென்றால் ஹன்டிங்டன் கோரியா வியாதி ஏற்படுகிறது. பொதுவாக VNTR ஜீனோம் முழுவதும் பரவலாகக் காணப்படுவதில்லை. குரோமோசோம்களின் நுனிப்பகுதியில் டிலோமியர் இடங்களில் காணப்படும்.

பயன்கள்: இவை ஜீனோம்களின் வரைபடம் தயாரிக்கவும் மற்றும் DNA விரல்தடயத்திலும் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

நுண் (மைக்ரோ) சாட்டிலைட்கள் அல்லது எளிய திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் பேஸ்கள் (Simple Tandem Repeats STRs- எஸ்டிஆர்ஸ்)

நுண்சாட்டிலைட்டுகள் 10-30 பிரதிகள் கொண்ட திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் சிறு அலகுகளால் ஆனது. இது மினி சாட்டிலைட்டை விட கீழ்க்கண்ட காரணங்களால் அதிக அளவில் DNA குறியீடாக பயன்படுத்தப்படுகிறது. 1. நுண்சாட்டிலைட்டுகள் ஜீனோமில் சமமாக பரவலாகக் காணப்படுகின்றன. 2. PCR கொண்டு பல்உருதோற்ற நீளத்தைக் கண்டறியலாம்.



படம் 10.6. மைக்ரோ சாட்டிலைட்கள்

படம் 10.6.ல் DNA மூலக்கூற்றின் இரு அல்லீல்கள் உள்ளன. ஒன்றில் 5 GA டைமர் நியூக்ளியோடைட்களின் திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் அலகுகளும் மற்றொன்றில் 10 டைமர் நியூக்ளியோடைட்களின் திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் அலகுகளும் உள்ளன. PCR மூலம் மைக்கேராசாட்டிலைட்டுகளைச் சுற்றியுள்ள பகுதியைப் பெருக்கமடையச் செய்து அகரோஸ் ஜெல் எலெக்ட்ரோபோரசிஸ் மூலம் பிரித்தெடுத்து கண்டறியப்படுகிறது.

பயன்கள்: DNA தடயவியல் (forensic) ஆய்விற்கு இது பெரிதும் பயன்படுத்தப்படுகிறது.

ஒற்றை நியூக்ளியோடைட் பல்உருதோற்றம்
(Single Nucleotide Polymorphisms -SNPs-ஸ்னிப்ஸ்)

SNP என்பது ஜீனோமிக் DNAயில் ஒரு பேஸ் இணையின் அமைவிடமாகும். இதில் ஒரு இனக்கூட்டத்தின் பல உயிரிகளில் வித்தியாசமான நியூக்ளியோடைட்கள் இருக்கும். அந்த அமைவிடத்தில் காணப்படும் ஒவ்வொரு நியூக்ளியோடைடும் SNPயின் ஒரு அல்லீலைக் குறிக்கும். SNPயை கண்டறிய பல முறைகள் உள்ளன. பெரிய டேட்டா பேஸ்களில் (major data bases) சேமித்து வைக்கப்பட்டுள்ள தொடர்வரிசைத் தகவல்களை (sequence data) ஆராய்ந்து SNPயை கண்டறியலாம். DNA சிப்ஸ்/DNA மைக்கேரா அரேஸ் (DNA chips/microarrays) மூலம் SNPயை கண்டறியலாம். ஒரு DNA துண்டின் முழுமையான பேஸ் தொடர்வரிசையில் ஒவ்வொரு SNP இலக்கிலும் A,T,G,C ஆகிய 4 அல்லீல்கள் காணப்படும். முதலாம் அல்லீல் உள்ள TA பேஸ் இணை இரண்டாம் அல்லீலில் ATயாகவும் மூன்றாம் அல்லீலில் CGயாகவும் நான்காம் அல்லீலில் GCயாகவும் மாறியுள்ளது. மற்ற பேஸ் இணைகள் எல்லா அல்லீல்களிலும் ஒரே மாதிரி உள்ளன.



படம் 10.7. SNP இலக்கில் உள்ள 4 அல்லீல்கள்

மனிதனின் பேஸ் தொடர்வரிசையில் காணப்படும் வேறுபாடுகளில் 90 சதவீதத்திற்குக் காரணம் SNPயாகும். மனித ஜீனோமில் 3-17 மில்லியன் SNPக்கள் இருப்பதாகக் கண்டுபிடிக்கப்பட்டுள்ளது. இதில் 5 சதவீத SNP ஜீன்களுக்குள் இருப்பதாக கருதப்படுகிறது. ஆகவே ஒவ்வொரு ஜீனிலும் 6க்கும் மேற்பட்ட SNPகள் இருக்கும் இவ்வாறாக

SNP ஒரு மூலக்கூறு அடையாளக்குறி (molecular marker)யாக செயல்படுகிறது.

சில SNPக்கள் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்கில் காணப்படுகின்றன. அவை ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இலக்கின் பேஸ் தொடர்வரிசையில் மாற்றத்தை ஏற்படுத்தி RFLPஐ உண்டாக்கும். மற்றும் சில SNPகள் ஜீன்களின் குறியீடு தரும் பகுதிகளில் அமைந்திருக்கின்றன. அவை குறிப்பிட்ட புறவழித்தோற்றத்துடன் (phenotype) தொடர்புடையன. (உ.ம்.) A→T SNP பீட்டா குளோபின் ஜீனிற்குள் (β-globin) அமைந்துள்ளது. அரிவாள் செல் அனிமியா நோய் ஏற்படுகிறது.

பயன்கள்:இது மனித நோய்களுக்குக் காரணமாக இருக்கும் ஜீன்களின் வரைபடம் தயாரிக்கப் பயன்படுகிறது.

அங்கொன்றும் இங்கொன்றுமாக பெரிதாக்கப்பட்ட பல்உருதோற்ற DNA
(Random Amplified Polymorphic DNA -RAPD- ஆர்ஏபிடி-ராபிட்)

PCRல் குறிப்பட்ட ப்ரைமர்கள் கொண்டு குறிப்பிட்ட DNA துண்டுகள் உற்பத்தி செய்யப்படும். ஆனால் RAPDயில் ஜீனோம் முழுவதும் பரவலாகக் காணப்படும் ஒரு செட்/தொகுப்பு DNA துண்டுகள் குத்துமதிப்பாக (orbitrarily) தேர்ந்தெடுக்கப்பட்ட சிறு ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட் ப்ரைமர்களால் பெருக்கமடையச் செய்யப்படுகின்றன.

இம்முறையில் ஒரே ஒரு வகை ப்ரைமர் மட்டும்தான் உபயோகிக்கப்படும். பொதுவாக 9-10 பேஸ் இணைகள் கொண்ட ஒரு சிறு ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட் ப்ரைமர் பயன்படுத்தப்படும். இந்த ப்ரைமர் ஜீனோமின் பல இலக்குகளில் இணைந்து அந்த இலக்குகளில் காணப்படும் DNA துண்டுகளைப் பெருக்கமடையச் செய்கிறது. இதனால் அந்த ஜீனோமுக்கே உரித்தான குறிப்பிட்ட வகை பட்டை அமைப்பு (band pattern) கிடைக்கும். இது மற்றொரு ஜீனோமுடன் ஒப்பிட்டுப் பார்க்கப் பயன்படும். இரு வேறுபட்ட உயிரிகள் RAPDயால் உண்டு பண்ணும் பெருக்கமடைந்த DNA பட்டை, அமைப்பில் (amplified patterns) வேறுபட்டு இருப்பதால் ஒப்பிட்டுப் பார்க்க முடியும். இவ்வாறாக ஒரு உயிரியில் உற்பத்தி செய்யப்படும் ஒரு குறிப்பிட்ட வகை DNA துண்டு, மற்றொரு உயிரியில் உற்பத்தியாகாது.

பயன்கள்

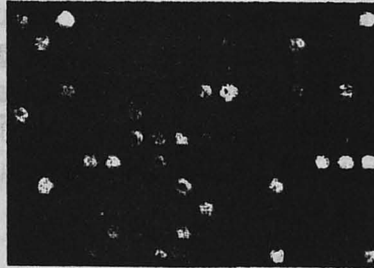
ஒவ்வொரு ராண்டம் ப்ரைமரும் வெவ்வேறு DNA பகுதிகளில் இணைவதால் அந்த DNAயின் பல்வேறு அமைவிட (loci) பகுதிகளைக் கண்டறிய முடியும். இதனால் RAPD மரபியல் வரைபடம் தயாரிக்கவும், மரபியல் விரல் தடயத்துக்கு ஒரு முறையாகவும் பயன்படுத்தப்படுகிறது.

DNA மைக்ரோஅரே
(DNA Microarray)

உயிரியல் மற்றும் மருத்துவத்தில் ஜீன் வெளிப்பாட்டினை அளவிடுவதற்கு மைக்ரோஅரே பயன்படுத்தப்படுகிறது. DNA மைக்ரோஅரே (i) ஸ்பாட்டட் மைக்ரோஅரே (spotted microarray) மற்றும் (ii) ஒலிகோநியூக்ளியோடைட் மைக்ரோஅரே அல்லது DNA சிப்ஸ் (DNA chips) என இருவகைப்படும்

ஸ்பாட்டட் (புள்ளி) மைக்ரோஅரே

கண்ணாடி, பிளாஸ்டிக் அல்லது சிலிகான் சிப் போன்ற ஒரு திடப்பொருளின் புறப்பரப்பில், நுண்ணோக்கியால் மட்டுமே காணக்கூடிய ஒரு தொகுப்பு நுண்ணிய DNA புள்ளிகள் (spots) பிணைக்கப்பட்டிருக்கும். இதற்கு DNA மைக்ரோஅரே என்று பெயர். ஒரு சிறப்புத்தன்மை வாய்ந்த ரோபாட்டிக் இயந்திரம் (robotic machine) மிகவும் நுண்ணிய ஸ்டெயின்லெஸ் ஸ்டீல் (stainless steel) ஊசிகள் மூலம் DNA புள்ளிகளை கண்ணாடி வில்லையின் (slide) புறப்பரப்பில் பிணைக்கும். அந்தப் புள்ளிகளின் விட்டம் 20-100 மைக்ரான்கள். இவ்வாறு பிணைக்கப்பட்ட DNA துண்டுகள் புரோபுகள் ஆகும். ஒரு கண்ணாடி வில்லையில் (glass slide) பல்லாயிரக்கணக்கான DNA புள்ளிகள் இருக்கும் (படம்10.8.). ஒவ்வொரு புள்ளியிலும் உள்ள ஜீனை ஒரு கணினி (computer) பகுத்தறியும்.



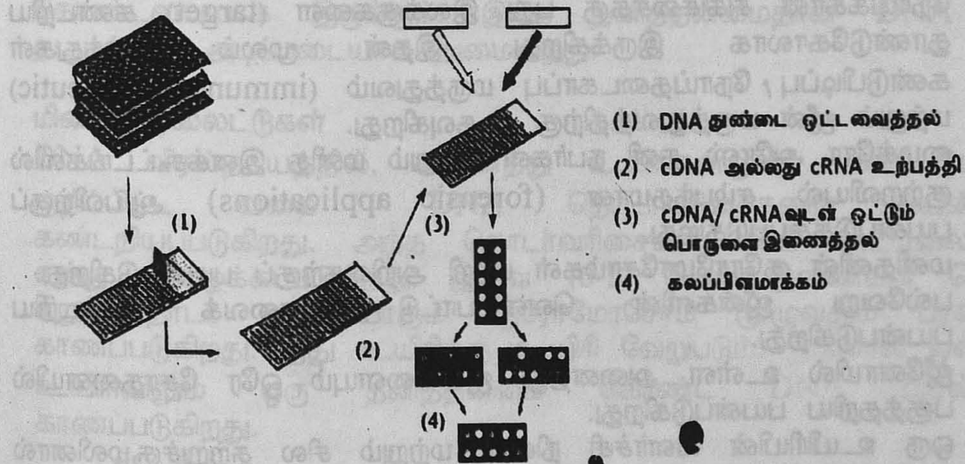
படம் 10.8. மைக்ரோ அரே சிப்பில் ஜீன் செயல்பாடு

பொதுவாக மைக்ரோஅரேஸ் பல்வேறு புரதங்களுக்கு குறியீடு கொடுக்கும் பல்வேறு ஜீன்களிலிருந்து படி எடுக்கப்படும் mRNA அளவை அறிவதற்குப் பயன்படுத்தப்படுகிறது. ஒரே வகையான பல செல்களிலிருந்து RNA எடுக்கப்பட்டு cDNA அல்லது cRNAவாக மாற்றப்படும். புதிதாக உற்பத்தி செய்யப்பட்ட cDNA/cRNAயுடன் நொதிகளின் துணை கொண்டு அல்லது வேதிப்பொருள் மூலம்

மின்காந்த அலை அதிர்வில் ஒளி வீசும் அடையாளப்பொருள் (fluorescent tags) சேர்க்கப்படும். அரேயிலுள்ள (array) ஓரிழை புரோப் தொடர்வரிசைக்கு இணையான தொடர்வரிசை (complementary sequence) கொண்ட cDNA அல்லது cRNA, பேஸ் இணைவின் மூலம் இணையான தொடர்வரிசைகள் பிணைக்கப்பட்டுள்ள இடத்தில் (spot) கலப்பினம் செய்யும். அந்த இடம் மைக்ரோஅரே ஸ்கேனர் (microarray scanner) கொண்டு பார்க்கும்போது ஒளிரும். அதன்பின் DNA புள்ளிகள் கொண்ட கண்ணாடி வில்லைகளில் உள்ள ஸ்கேன் செய்யப்பட்ட பிம்பங்கள் (images) மைக்ரோஅரே ஆய்வு உபகரணம் கொண்டு ஆராயப்படும்.

ஒளிரும் திறன் அதிகமாக இருந்தால் மாதிரியிலுள்ள செல்களில் புரோப் தொடர்வரிசை கொண்ட ஜீனில் படிஎடுத்தல் அப்போது நடப்பதைக் குறிக்கும். மாறாக ஒளிரும் திறன் குறைவாக இருந்தால் அந்த ஜீனில் படிஎடுத்தல் முடிவுற்றதைக் குறிக்கும். ஒளிரும் தன்மையின் அளவு ஏறத்தாழ அங்குள்ள ஒரு குறிப்பிட்ட mRNA பிரதிகளின் எண்ணிக்கைக்குச் சரியான அளவு விகிதத்தில் இருக்கும். இவ்வாறாக அந்த ஒளியின் அளவு அந்த ஜீனின் செயலின் அளவு அல்லது அதன் வெளிப்பாட்டு அளவை குறிக்கும்.

DNA மைக்ரோ அரேயின் செயல்பாட்டினை படம் 10.9. மூலம் காணலாம்.



படம் 10.9. மைக்ரோ அரே செயல்பாடு

DNA சிப்ஸ் (ஒலிகோநியூக்ளியோடைட் மைக்ரோ அரேஸ்)

DNA சிப்ஸ் சிலிகான் கண்ணாடியினாலான மெல்லிய பிஸ்கட் துண்டுகள் போல இருக்கும். DNA சிப்சில் செயற்கை முறையில் தயாரிக்கப்பட்ட பல்வேறு ஒலிகோநியூக்ளியோடைடுகள் அதிக அடர்வில்

காணப்படும்(-300,000-ஒரு மில்லியன் ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட்கள்/செ.மீ^{2}). ஒவ்வொரு ஒலிகோ நியூக்ளியோடைடிலும் ஜீனோமில் காணப்படும் வெவ்வேறு ஜீனின் தொடர் வரிசைகள் காணப்படும். DNA சிப்ஸ்கள் வெப்பக்கட்டுப்பாடு கொண்ட கலப்பின அறையில் தலைகீழாக ஏற்றி வைக்கப்படும். அந்த கலப்பின அறையில் ஒளிரும் பொருளால் அடையாளமிடப்பட்ட (fluorescently labelled) cDNAயை உட்செலுத்தி, ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட்களுடன் கலப்பினமாக்கத்தில் ஈடுபடச் செய்யப்படும். அரேயின் புறப்பரப்பில் லேசர் பாய்ச்சப்படுவதால் அரேயின் ஒளிரும் பொருளிலிருந்து ஒளி வெளியிடப்படும். அந்த ஒளியை ஒரு லென்ஸ் சேகரித்து உணர்வானுக்கு (sensitive detector) செலுத்தும். இதன்மூலம் கலப்பினம் எந்த அளவு நடைபெற்றது என்பதைத் தெரிந்து கொள்ளலாம்.

DNA மைக்ரோ அரேயின் பயன்பாடுகள்

1. DNA சிப்ஸ், சிஸ்டிக் ∴பைப்ரோசிஸ் போன்ற மரபியல் வியாதிகளுக்குக் காரணமான மியூட்டண்ட் அல்லீல்களை கண்டறிய உதவுகிறது. மார்புப்புற்று நோயுடன் தொடர்பு கொண்டுள்ள BRCA1 ஜீனின் மியூட்டண்ட் அல்லீல்களை கண்டறிய உதவுகிறது. மனிதனில் இன வழி திடீர்மாற்றங்களையும் மற்றும் புற்றுநோயின் உடற்செல் திடீர்மாற்றங்களையும் கண்டறிய உதவுகிறது.
2. நோய்க்கான சிகிச்சைக்கு புது இலக்குகளை (target) கண்டறிய தூண்டுகோலாக இருக்கிறது. இதன் மூலம் மருந்துகள் கண்டுபிடிப்பு, நோய்தடைகாப்பு மருத்துவம் (immune therapeutic) மற்றும் ஜீன் மருத்துவத்திற்கு உதவுகிறது.
3. மைக்ரோ அரேஸ் தனி நபர்கள் மற்றும் மனித இனக்கூட்டங்களில் குற்றவியல் சம்பந்தமான (forensic applications) ஆய்விற்குப் பயன்படுத்தப்படுகிறது.
4. மனிதனின் குரோமோசோம்கள் பற்றி அறிவதற்குப் பயன்படுகிறது.
5. பல்வேறு ஜீன்களின் வெளிப்பாட்டு அளவைக் கண்டறிய பயன்படுகிறது.
6. ஜீனோமில் உள்ள அனைத்து ஜீன்களையும் ஒரே சோதனையில் பகுத்தறிய பயன்படுகிறது.
7. ஒரு உயிரியின் வளர்ச்சி நிலை மற்றும் சில சுற்றுச்சூழலினால் அவ்வுயிரியில் ஜீன் வெளிப்பாட்டுத் தன்மையில் ஏற்படும் வேறுபாடுகளை அறிய உதவுகிறது.

DNA விரல் தடயம்
(Finger printing / DNA Profiling)

விரல் தடயம் மனிதர்களை அடையாளம் கண்டு கொள்ள உதவுவது போல, ஒரு மனிதனின் DNA, அவனைத் துல்லியமாக மற்றவர்களிமிருந்து வேறுபடுத்திக் காட்டும். இவ்வாறு DNAவை பயன்படுத்தி வேறுபடுத்திக் கண்டறியும் முறைக்கு DNA விரல்தடயம் என்று பெயர். அலெக் ஜெ.:ப்ரீஸ், (Alec Jeffreys) 1986ஆம் ஆண்டில் இதை முதன் முதலில் விளக்கினார்.

DNA விரல் தடயத்தில், ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் ஆய்வு புரோபுகள் பயன்படுத்தி கலப்பினமாக்கம் மற்றும் முழுமையாக ஒத்திருத்தல் மூலம் அடையாளம் கண்டுபடித்தல் ஆகிய நுட்பங்கள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

மரபியல் அடையாளக் குறியீடு

அநேக மரபியல் அடையாளக் குறியீடுகளில் அங்கொன்றும் இங்கொன்றுமாக திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் DNA வரிசைகள் காணப்படுகின்றன. மரபியல் அடையாளக் குறி அமைவிடத்தைப் பொறுத்து ஒவ்வொரு திரும்பத் திரும்ப காணப்படும இடத்திலும் 1-100 பேஸ் இணைகள் காணப்படும். (உ.ம்.) VNTR, MVR (Minisatellite Variant Repeat). மேற்கூறியவை, ஒவ்வொரு உயிரியிலும் தனித்தன்மை கொண்டவையாக இருக்கும். இந்த தனித்தன்மைதான் DNA விரல் தடயத்தின் அடிப்படையாக அமைகிறது.

மினிசாட்டிலைட்டுகள்

DNA விரல்தடயத்தில், அனைத்து உயிரிகளிலும் காணப்படும் ஒரு குறிப்பிட்ட வகை DNA தொடர்வரிசைகளை பயன்படுத்தி கண்டறியப்படுகிறது. அந்த தொடர்வரிசைகள் மினி சாட்டிலைட்டுகள் என்று அழைக்கப்படுகிறது. இவை 10-12 பேஸ் இணைகள் கொண்ட சிறு தொடர் வரிசையாகும். குரோமோசோம் முழுவதும் பரவலாகக் காணப்படுகிறது. இது உயிரிக்கு உயிரி வேறுபடும். இதனால் ஒவ்வொரு உயிரியிலும் ஒரு தனித்தன்மை கொண்ட DNA விரல்தடயம் காணப்படுகிறது.

புரோபுகள்

DNA விரல் தடயத்தில் 'பல இட' (multi locus) மற்றும் 'ஒரே இட' (single locus) ஆகிய இருவகை புரோபுகள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. 'பல இட' புரோபுகள் சிறு DNA துண்டுகளாகும். அவை இலக்கு DNAயுடன் பல இடங்களில் இணைந்து பல பட்டைகளை உண்டு பண்ணும். இது முக்கியமாக பெற்றோர் யாரென கண்டறிவதில்

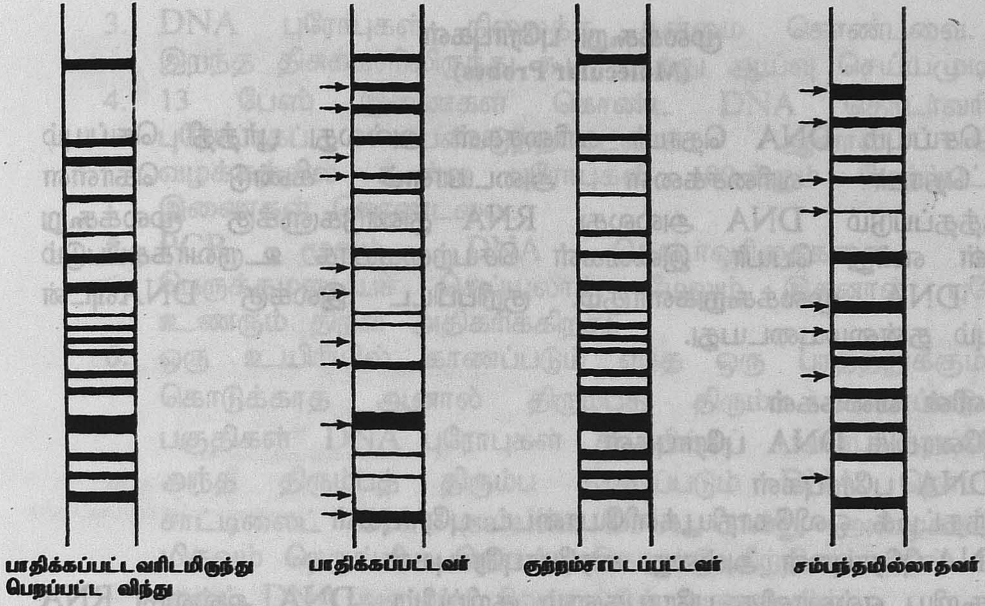
பயன்படுத்தப்படுகிறது. 'ஒரே இட' புரோபு ஒரு நீள DNAவாகும். இது இலக்கு DNAயுடன் ஒரே ஒரு இடத்தில் மட்டும்தான் இணையும். இதில் இரண்டு பட்டைகள் மட்டும்தான் உண்டாகும். ஒன்று தந்தையிடமிருந்தும் மற்றொன்று தாயிடமிருந்தும் கிடைக்கும். குற்றவியல் ஆய்வாளர்கள் 3-4 வகை 'ஒரே இட' புரோபுகளை பயன்படுத்துகிறார்கள். இது குற்றவாளிகளைச் சரியாகக் கண்டறிய உதவுகிறது.

பிசிஆர் (PCR)

DNA விரல் தடயத்தில் பாலிமரேஸ் சங்கிலி வினை பயன்படுத்தப்படுகிறது. இது சிறிதளவு DNAவை அதிக அளவு பெருக்கமடையச் செய்ய பயன்படுகிறது.

DNA விரல்தடய செய்முறை

பொதுவாக இரத்தம், விந்து (semen), திடதிசுக்கள், இரத்தக்கறைகள், விந்துகறைகள், ரோமத்தின் வேர், உமிழ்நீர், வாய்க்குழி செல்கள் போன்றவற்றிலிருந்து மாதிரி DNA எடுக்கப்படும். புரோட்டினேஸ் K மற்றும் டைதியோத்ரிடோல் பயன்படுத்தி மாதிரிகளிலிருந்து DNA பிரித்தெடுக்கப்படும். பின் பீனால்-குளோரோபார்ம் கொண்டு DNA பிரித்தெடுக்கப்படும். எத்தனால் + சோடியம் அசிட்டேட் கொண்டு வீழப்படிவாக்கம் செய்து DNA தூய்மைபடுத்தப்படும். அதன்படி DNA ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதி கொண்டு வெட்டப்படும். வெட்டுதல் மினி சாட்டிலைட் தொடர் வரிசைக்குள் இல்லாமல் இருக்க வேண்டும். இதனால் கிடைத்த DNA துண்டுகள் ஜெல் எலெக்ட்ரோபோரசிஸ் மூலம் பிரித்தெடுக்கப்படும். இந்த DNA துண்டுகளில் காணப்படும் மினிசாட்டிலைட் தொடர்வரிசைகள் அதற்கு இணையான 'பல இட' அல்லது 'ஒரே இட' புரோபுகள் மூலம் கண்டறியப்பட்டு தேர்ந்தெடுக்கப்படுகின்றன. புரோபுகள் கதிர்வீச்சு பூசப்பட்டதாக இருப்பதால் மினிசாட்டிலைட்டுகளை புரோபுகளுடன் கலப்பினமான பின் கண்டறியலாம். இதற்கு சதர்ன்ப்ளாட் கலப்பின நுட்பம் பயன்படுத்தப்படுகிறது. பல்வேறு DNA துண்டுகள் பட்டை வடிவத்தில் காணப்படும். இப்பட்டைகளை தன்னக கதிர்வீச்சு மூலம் கண்டறியலாம். ஒத்த இரட்டையர்கள் (identical twins) தவிர மற்ற எல்லா நபர்களும் வெவ்வேறு வகை மினிசாட்டிலைட் அமைப்பைக் கொண்டிருப்பார்கள் (படம் 10.10.).



படம் 10.10. DNA விரல் தடயம்

பயன்பாடுகள்

1. குற்றவாளிகளைக் கண்டறிய பெரிதும் பயன்படுகிறது.
2. குற்றம் அல்லது விபத்துக்குப் பலியான நபர்களை கண்டறிய பெரிதும் பயன்படுகிறது.
3. சர்ச்சைக்குரிய குழந்தையின் பெற்றோர்களை கண்டறிய பயன்படுகிறது.
4. ஒரு நபரின் பாலினத்தைக் கண்டறிய உதவுகிறது. Y குரோமோசோமில் உள்ள ஒரு குறிப்பிட்ட தொடர் வரிசையை ஓரிணை ப்ரைமர்கள் மூலம் பெருக்கமடையச் செய்து இதனை கண்டறியலாம்.
5. கொலை, கற்பழிப்பு போன்றவற்றில் சந்தேகப்படுபவர்களை கண்டறியும் தடயவியல் ஆய்விற்குப் பயன்படுகிறது.
6. இனக்கூட்ட மரபியல் மற்றும் சுற்றுச்சூழல் மரபியலில் பயன்படுத்தப்படுகிறது.
7. வெளிநாடுகளிலிருந்து வருபவர்கள் தொடர்பான வழக்குகட்கு (immigration cases) பயன்படுத்தப்படுகிறது.
8. பூனை, நாய் மற்றும் பறவைகளுக்கும், DNA விரல் தடயத்தை பயன்படுத்தலாம்.
9. செல் வரிசை ஒற்றுமையை (cell line identify) உறுதிப்படுத்த பயன்படுகிறது.

மூலக்கூறு புரோபுகள்
(Molecular Probes)

பூர்த்தி செய்யும் DNA தொடர் வரிசைகள் அல்லது பூர்த்தி செய்யும் RNA தொடர் வரிசைகளை அடையாளம் கண்டு கொள்ள பயன்படுத்தப்படும் DNA அல்லது RNA துண்டுகளுக்கு மூலக்கூறு புரோபுகள் என்று பெயர். இவைகள் செயற்கையாக உருவாக்கப்படும் ஓரிழை DNA மூலக்கூறுகளாகும். குறிப்பிட்ட இலக்கு DNAவுடன் இணையும் தன்மையுடையது.

புரோபுகளின் வகைகள்

1. ஜீனோமிக் DNA புரோபுகள்
2. cDNA புரோபுகள்
3. சிந்தட்டிக் ஒலிகோநியூக்ளியோடைட் புரோபுகள்
4. RNA புரோபுகள் அல்லது ரைபோபுரோபுகள்.

மேற்கூறிய எல்லாவித புரோபுகளும் குறிப்பிட்ட DNA அல்லது RNA தொடர்வரிசைகளைக் கண்டறிவதற்குப் பயன்படுகின்றன.

ஜீனோமிக் DNA புரோபுகள்

தூய்மைப்படுத்தப்பட்ட DNA துண்டுகளை அதிக பிரதிகள் உண்டாக்கி, தகுந்த அடையாளமிட்டபின் புரோபாகப் பயன்படுத்தப்படுகிறது.

cDNA புரோபுகள்

mRNAயிலிருந்து ரிவர்ஸ் ட்ரான்ஸ்கிரிப்டேஸ் நொதியின் உதவியினால் cDNAவைப் பெற்று பின் அதை அடையாளமிட்டபின் புரோபாகப் பயன்படுத்தப்படுகிறது.

செயற்கை ஒலிகோநியூக்ளியோடைட் புரோபுகள்

இவ்வகை புரோபுகளில் 20 பேஸ்களுக்கு மேல் இருப்பதில்லை.

ரைபோபுரோபுகள்

இவை ஓரிழை கொண்ட புரோபுகள். தகுந்த DNAவை வார்ப்பாகக் (templates) கொண்டு உற்பத்தி செய்யப்படுகிறது. DNA புரோபுகளை விட RNA புரோபுகள் அதிக அளவில் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

DNA புரோபுகளின் பண்புகள்

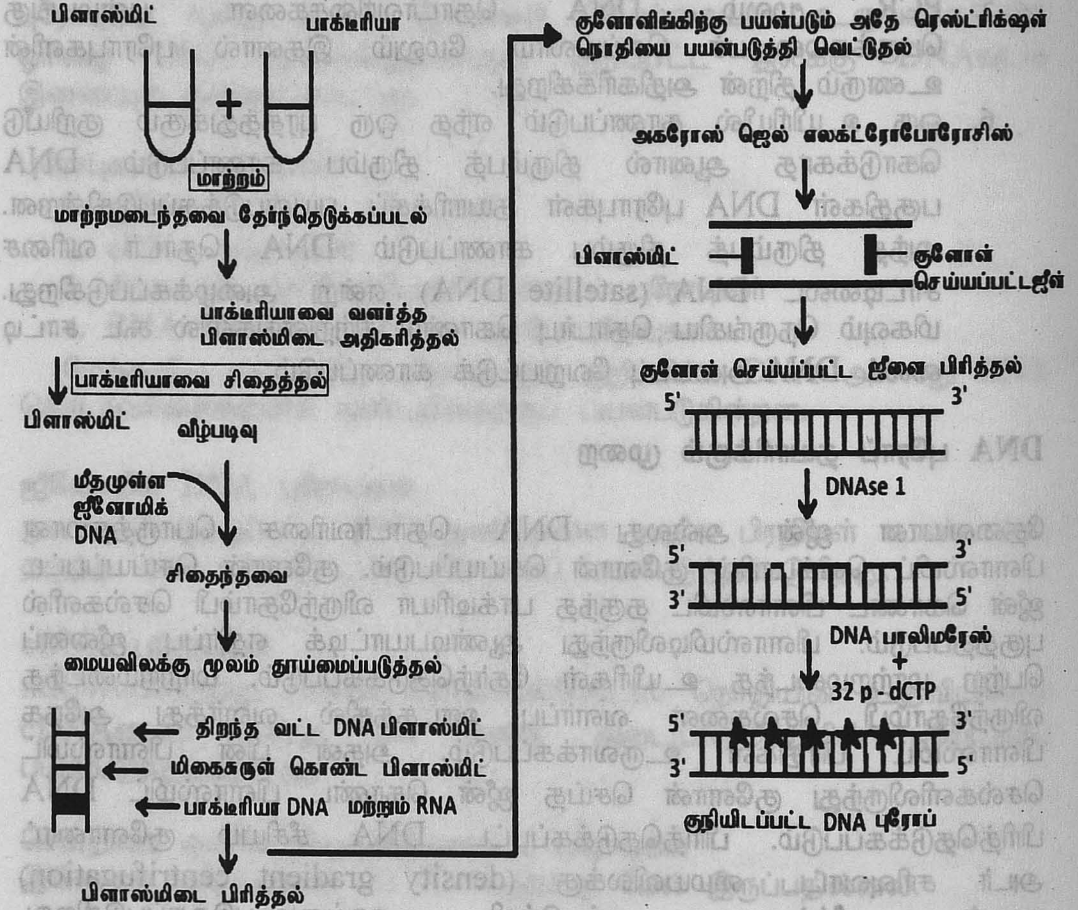
1. DNA புரோபுகள் வரையறை கொண்ட தனித்துவம் கொண்டதாக இருக்க வேண்டும்.
2. தவறான நேர்முக அல்லது மறைமுக முடிவுகள் இருக்கக்கூடாது.

3. DNA புரோபுகள் நிலைத்த தன்மை கொண்டவை. ஆகவே இறந்த திசுக்களிலிருந்து கூட எடுத்து ஆய்வு செய்யமுடியும்.
4. 13 பேஸ் இணைகள் கொண்ட DNA தொடர்வரிசைகளை புரோபாகப் பயன்படுத்தப்படலாம். ஆனால் பொதுவாக வழக்கத்தில் உள்ள புரோபுகள் 100-க்கும் மேற்பட்ட பேஸ் இணைகள் கொண்டவை.
5. PCR மூலம் DNA தொடர்வரிசைகளை பன்மடங்கு பெருக்கமடையச் செய்யலாம். மேலும் இதனால் புரோபுகளின் உணரும் திறன் அதிகரிக்கிறது.
6. ஒரு உயிரியில் காணப்படும் எந்த ஒரு புரதத்துக்கும் குறியீடு கொடுக்காத ஆனால் திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் DNA பகுதிகள் DNA புரோபுகள் தயாரிக்கப் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. அந்த திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் DNA தொடர் வரிசை சாட்டிலைட் DNA (satellite DNA) என்று அழைக்கப்படுகிறது. மிகவும் நெருங்கிய தொடர்பு கொண்டு சிற்றினங்களில் கூட சாட்டி லைட் DNA அமைப்பு வேறுபட்டுக் காணப்படும்.

DNA புரோப் தயாரிக்கும் முறை

தேவையான ஜீன் அல்லது DNA தொடர்வரிசை பொருத்தமான பிளாஸ்மிட் வெக்டாரில் குளோன் செய்யப்படும். குளோன் செய்யப்பட்ட ஜீன் கொண்ட பிளாஸ்மிட் தகுந்த பாக்டீரியா விருந்தோம்பி செல்களில் புகுத்தப்படும். பிளாஸ்மிடிலிருந்து ஆண்டிபயாட்டிக் எதிர்ப்பு ஜீனைப் பெற்ற மாற்றமடைந்த உயிரிகள் தேர்ந்தெடுக்கப்படும். மாற்றமடைந்த விருந்தோம்பி செல்களை வளர்ப்பு ஊடகத்தில் வளர்த்து அநேக பிளாஸ்மிட் பிரதிகள் உருவாக்கப்படும். அதன் பின் பிளாஸ்மிட் செல்களிலிருந்து குளோன் செய்த ஜீன் கொண்ட பிளாஸ்மிட் DNA பிரித்தெடுக்கப்படும். பிரித்தெடுக்கப்பட்ட DNA சீசியம் குளோரைட் அடர் சரிவுவாட்ட மையவிலக்கு (density gradient centrifugation) மூலம் வீழ்ப்படிவு ஏற்படுத்தி தூய்மைப்படுத்தப்படுகிறது. தூய்மைப்படுத்தப்பட்ட பிளாஸ்மிடில் உகந்த அடையாளத்தை (label) இணைத்து நேரடியாக புரோப் தயாரிக்க பயன்படுத்தலாம் அல்லது ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் கொண்டு குளோன் செய்யப்பட்ட ஜீன் விடுவிக்கப்பட்டு கதிர்வீச்சு குறியீடு (radio labelling) செய்யப்படும். விடுவிக்கப்பட்ட ஜீனுடன் முதலில் DNaseI செயல்புரிந்து வடுக்குறி (nick) ஏற்படுத்தும். அதன்பின் 5'-3' எக்ஸோநியூக்ளியேஸ் மற்றும் 5'-3' பாலிமரேஸ் மற்றும் DNA பாலிமரேஸ்I அடுத்தடுத்து செயல் புரிந்து கதிர்வீச்சு குறியிடப்பட்ட டி ஆக்சி நியூக்ளியோ டைட்களை (32P-dCTP) DNA புரோபுடன் பொருத்தும். அச்சமயம் வடுக்குறியானது சரி செய்யப்பட்டுவிடும். அதன்பின் சோடியம்

ஹைடிராக்சைடு கொண்டு DNAவை சிதைத்து, பொருத்தப்படாமல் இருக்கும் டி-ஆக்சிரைபோ நியூக்ளியோடைட்கள் தூண் குரோமட்டோகிராபி மூலம் DNAயிலிருந்து பிரித்தெடுக்கப்படும்.



படம் 10.11. DNA புரோப் தயாரித்தல்

குறியிடப்பட்ட DNAக்கு ஒன்றும், மற்ற 32P-dCTP -க்கு மற்றொன்றும் ஆக இரண்டு உச்சங்கள் (peaks) கிடைக்கும். முதல் உச்சம் தனியாக சேகரித்து வைக்கப்பட்டு புரோபாக பயன்படுத்தப்படுமி (படம் 10.11.).

DNA புரோபின் பயன்கள்

1. மரபுப் பொறியியல் ஆய்விற்குப் பயன்படுகிறது. குறிப்பிட்ட DNA தொடர் வரிசைகளைக் கொண்ட குளோன்களை கண்டறியவும், குறிப்பிட்ட மரபுப் பண்புகளைக் கொண்ட மாற்றமடைந்த உயிரிகளைக் கண்டறியவும் உதவுகிறது.
2. குறிப்பிட்ட வகை ப்ளாஸ்மிட்கள் மற்றும் ஆண்டிபயாட்டிக் எதிர்ப்பு திறன் கொண்ட ஜீன்களைக் கண்டறிந்து, நோயாளிக்கு எவ்வித ஆண்டிபயாட்டிக் சிகிச்சை அளிக்க வேண்டும் என்பதை தீர்மானிக்க உதவுகிறது.
3. நுண்ணுயிரிகளினால் வரும் நோய்களை ஆரம்ப நிலையிலேயே கண்டறிந்து சிகிச்சை அளிக்க உதவுகிறது.
4. மறு இணைவு புரோபுகள் மூலம் இறக்குமதி செய்யப்படும் விவசாயப் பொருட்களிலுள்ள வைரஸ் போன்ற நுண்ணயிரிகளை இனம் கண்டறியப் பயன்படுகிறது.
5. குற்றவாளிகளைக் கண்டுபிடித்தல், பெற்றோர் யார் என தீர்மானித்தல், குடும்ப உறவுகளை கண்டறிதல் போன்ற குற்றவியல் சட்டம் சார்ந்த (forensic) கண்டுபிடிப்புகளுக்குப் பயன்படுத்தப்படுகிறது.
6. தொற்று வியாதி சம்பந்தமான ஆய்வுகளுக்குப் பயன்படுகிறது.
7. நல்ல ரக விதைகள் மற்றும் தாவரங்களை கண்டறிய தாவர உற்பத்தியாளர்களுக்குப் பயன்படுகிறது.
8. உயிரிகளை சிற்றினம் மற்றும் அவற்றின் வகைகள் வரை வேறுபடுத்திப் பார்க்க உதவுகிறது.
9. மூலக்கூறு உயிரியலின் ஆரம்ப படிப்புக்கு உதவுகிறது.
10. இனக்கூட்ட மரபியல் மற்றும் சுற்றுச்சூழல் மரபியல் படிப்புக்கு பயன்படுகிறது.
11. மனித இனநூல் (anthropology) ஆய்விற்குப் பயன்படுகிறது.
12. மனித ஜீனில் ஒரு பேஸ் இணையில் மாறுதல் ஏற்பட்டால் கூட அது மரபுநோய்களை உண்டாக்கும். அவ்வித மாறுபாடுகளை கண்டறிவது மரபியல் நோய்களை கண்டுபிடிக்க பயன்படுகிறது. DNA புரோபுகள் மூலம் இயல்பான (normal) மற்றும் மாறுபட்ட (நோய்க்குக் காரணமாக இருக்கும்) ஜீன்களின் RFLP மாதிரிகளின் வித்தியாசங்களை கண்டறியலாம்.

நோய்க்கிருமிகளைக் கண்டறிய உதவும் புரோபுகளை தயாரிக்கும் முறை

எந்த ஒரு குறிப்பிட்ட நோய்க்கிருமியின் DNAக்கு புரோப் தயார் செய்ய வேண்டுமோ அதன் DNA பிரித்தெடுக்கப்பட்டு தூய்மை செய்யப்படும். அதனை ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் மூலம் சிறுசிறு துண்டுகளாக்கி அவைகளை ப்ளாஸ்மிட் வெக்டாரில் குளோன் செய்ய வேண்டும். நோய்க்கிருமியின் ஜீனோமிக் DNA கொண்டு மாற்றமடைந்த ப்ளாஸ்மிட் தீங்கற்ற இனத்தில் ஜீனோமிக் DNA கொண்ட ப்ளாஸ்மிடிலிருந்து தனிமைப்படுத்தப்பட்டு புரோப் தயாரிக்கப் பயன்படுத்தப்டும். சோதனைகள் மூலம் கலப்பினமாக்கமின்மை உறுதிப்படுத்தப்படும்.. அதன்பின் அந்த புரோபின் தன்மை வளர்ப்பின கலவையில் வைத்து சோதிக்கபடும். எந்த புரோபுகள் முற்றிலும் அந்த குறிப்பிட்ட நோய்க்கிருமி DNAவைஅடையாளம் காட்டுகிறதோ, அந்த திறனுடைய புரோபுகள் தேர்ந்தெடுக்கப்பட்டு அதனுடைய உணரும் திறன் (sensitivity) அளவு கண்டறியப்படும்.

அநேக நோய்க்கிருமிகளுக்கு எதிரான DNA புரோபுகள் தயார் நிலையில் உள்ளன. DNA புரோபுகள் நுண்ணுயிரியால் ஏற்படும் நோய்களை ஆரம்ப நிலையிலேயே கண்டறிய முடிவதால், தடுப்பு மருந்துகள் மூலம் நோய்கிருமிகளின் செயலை அவற்றின் அறிகுறிகள் வெளியே தென்படும் முன்பே தடுத்து விடலாம். உதராணமாக மைக்கோபாக்டீரியம் ட்யூபர்குலோசிஸ், மைக்கோபாக்டீரியம் லெப்ரே, ப்ளாஸ்மோடியம் ஃபால்சிபாரம், சால்மோனெல்லா டைப்பி போன்றவைகளுக்கு DNA புரோபுகள் உள்ளன மலேரியாவைக் கண்டறிய உதவும் DNA புரோபுகள் ப்ளாஸ்மோடியம் ஃபால்சிபாரத்துடன் மட்டும்தான் இணையும். ப்ளாஸ்மோடியம் வைவாக்சுடனோ, ப்ளாஸ்மோடியம் சைனோமோல்கியுடனோ கலப்பினம் செய்யாது. இந்த புரோபுகள் இரத்தத்திலுள்ள ப்ளாஸ்மோடியம் ஃப்பால்சிபாரத்தின் DNAவை ஒரு நானோகிராம் அளவு வரை கண்டறிகிறது.

மூலக்கூறு கலப்பினமாக்கம் (Molecular hybridization)

மரபுப் பொறியாளர்களுக்கு, கலப்பினமாக்கம் மிகவும் பயனுள்ள நுட்பங்களில் ஒன்றாகும். பூர்த்தி செய்யக்கூடிய இணையான நியூக்ளிக் அமில தொடர்வரிசைகள் ஒன்றோடொன்று இணையும் தன்மை வாய்ந்தது என்ற அடிப்படையில்தான் இந்நுட்பம் அமைந்துள்ளது. கலப்பினமாக்கத்தினால், ஒரு குறிப்பிட்ட DNA துண்டை அடையாளம் காண முடியும். மேலும் மற்ற பிற துண்டுகளிலிருந்து பிரித்தெடுத்து தூய்மைப்படுத்த முடியும்.

கலப்பினமாக்க வகைகள்

1. திரவ கலப்பினமாக்கம் (Liquid hybridization)
2. வடிதாள் கலப்பினமாக்கம் (Filter hybridization)
3. பாலிமரேஸ் சங்கிலிவினை (PCR)
4. RFLP ஆய்வு முறை
5. அதே இட கலப்பினமாக்கம் (*in situ* hybridization)
6. DNA அரே மற்றும் DNA சிப்ஸ்

1. திரவ கலப்பினமாக்கம்

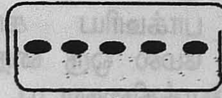
இம்முறையில் ஓரிழை நியூக்ளிக் அமில இழைகள், கலப்பினம் உண்டாவதற்கு உகந்த நிலை கொண்ட திரவத்தில் தன்னிச்சையாக இருக்கும். ஓரிழை மற்றும் ஈரிழை நியூக்ளிக் அமிலங்களுக்கிடையே காணப்படும் இயற்பிய குண வேறுபாடுகள் கொண்டு கலப்பினம் உண்டாவதை அறியலாம். பொதுவாக இரட்டை இழை (duplex) உண்டாவதை அதிக வண்ணத் தோற்றம் (hyperchromicity) கொண்டு அளவிடலாம். அல்லது ஓரிழை அல்லது ஈரிழைகள் ஹைடிராக்சி அபாடைட் தூணுடன் (hydroxyapatite column) இணைவதைக் கொண்டு அளவிடலாம். இம்முறையின் பயன்கள்:

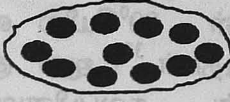
1. DNA மாதிரிகளில் திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் தொடர்வரிசைகள் உள்ளனவா என்று தெரிந்து கொள்ளலாம்.
2. ஜீனோமின் அளவைக் கண்டறியலாம்.
3. திரும்பத் திரும்ப இருக்கும் தொடர்வரிசைகள் மற்றும் ஒரு பிரதி தொடர் வரிசையைப் பிரித்தெடுக்கலாம்.
4. ஒரு செல்லில் உள்ள பலவித RNA வகைகள் மற்றும் ஒவ்வொரு வகையிலும் உள்ள பிரதிகளின் எண்ணிக்கையை தெரிந்து கொள்ளலாம்.
5. mRNAவாக படி எடுக்கப்படும் DNAவின் அளவை அறிய முடியும்.

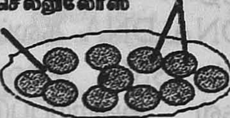
2. வடிதாள் கலப்பினமாக்கம்

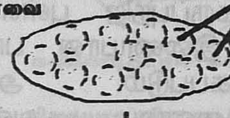
ஓரிழை DNA அல்லது RNA, நைட்ரோசெல்லுலோஸ் படலம் போன்ற ஒரு செயலற்ற ஆதாரப் பொருளின் மேல் அசையாமல் நிலை நிறுத்தப்படும் (immobilization). குறியிடப்பட்ட (labelled) புரோபுடன் கலப்பினமாக்கம் நடைபெறும். (உ.ம்.) காலனி கலப்பினமாக்கம், ப்ளேக் (plaque) கலப்பினமாக்கம், சதர்ன் ப்ளாட்டிங், நார்தர்ன் ப்ளாட்டிங், டாட் ப்ளாட் நுட்பம் போன்றவை.

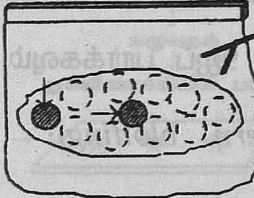
i. காலனி கலப்பினமாக்கம்: ஆய்வுக்கு எடுத்துக் கொள்ளப்பட்ட குளோன் செய்யப்பட்ட ஈஸ்ட் காலனி அல்லது பாக்டீரிய காலனி அல்லது பாஜ் ப்ளேக்குகள் மூல வளர்ப்புத் தட்டிலிருந்து (master plate) நைட்ரோசெல்லுலோஸ் வடிதாளுக்கு படிஎடுத்தல் தட்டு (replica plating) மூலம் மாற்றப்படுகிறது (படம் 10.12.). காலனிகள் கொண்ட வடிதாள் சோடியம் ஹைடிராக்சைடுடன் வினைபுரிவதால் நுண்ணுயிரி செல்களின் இரட்டை இழை DNA ஓரிழை DNAவாக மாற்றப்படும். அதன்பின் நைட்ரோசெல்லுலோஸ் வடிதாளை, புரோட்டீனேஸ் K நொதி கொண்ட திரவத்தில் மூழ்கச் செய்வதால், அந்நொதி வடிதாளிலிருந்து புரதத்தை அகற்றி விடும். இதனால் DNA மட்டும் வடிதாளில் இணைந்து காணப்படும். வடிதாள் 80^{0}Cயில் உலர்த்தப்படும். அதனால் DNA வடிதாளில் உறுதியாக ஒட்டிக்கொள்ளும். இதன் விளைவாக வடிதாளில் பாக்டீரிய காலனிகளின் DNA அச்சு (print) பதிந்துவிடும். அதன் பின் வடிதாள் ^{32}P வினால் அடையாளக் குறியிடப்பட்ட கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட DNA புரோப் அல்லது RNA புரோப் கொண்ட கலப்பின திரவத்தில் வைக்கப்படும். புரோப் DNA அச்சிலுள்ள இலக்கு DNAயுடன் இணைந்து DNA-DNA கலப்பினம் அல்லது RNA-DNA கலப்பினம் உண்டாக்கும். அதன்பின் வடிதாளை உப்பு திரவத்தில் கழுவி, இணையாமல் தனித்து நிற்கும் புரோபுகள் அகற்றப்படும். அதன்பின் வடிதாள் தன்னகக் கதிர்வீச்சு முறைக்கு உட்படுத்தப்படுகிறது. கதிர்வீச்சின் உதவியினால் கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட புரோபுடன் கலப்பினம் செய்த DNA பகுதிகளைத் தெளிவாகக் கண்டு பிரித்தெடுக்கலாம். இது தன்னகக் கதிர்வீச்சு படத்தில் கருப்புப் புள்ளிகளாகத் தெரியும். தன்னகக் கதிர்வீச்சு படம் மூலத்தட்டுடன் ஒப்பிட்டுப் பார்க்கப்படும். அந்த கருப்புப் புள்ளிகள் மூலத்தட்டிலுள்ள மறு இணைவு அடைந்த காலனிகளின் சரியான அமைவிடத்தைக் காட்டும். மறுஇணைவு அடைந்த செல்களில்தான் அந்த குறிப்பிட்ட, தேவையான (particular, desired) ஜீன் காணப்படும். மூலத்தட்டிலிருந்து அந்த மறுஇணைவு அடைந்த காலனிகள் பிரித்தெடுக்கப்பட்டு, எதிர்காலப் பயனுக்காக அதிக அளவு வளர்க்கப்படும்.

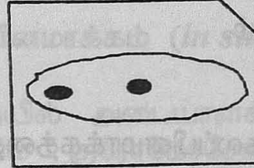












படம் 10.12. காலனி கலப்பினமாக்கம்

ii. ப்ளேக் கலப்பினமாக்கம் (plaque hybridization)

இந்த முறை காலனி கலப்பினமாக்கத்தின் சிறு வேறுபாடு ஆகும். மறு இணைவடைந்த பாஜ்களை பிரித்தெடுக்க 1977 இல் பென்டன் மற்றும் டேவிஸ் (Benden and Davies) இந்த முறையை வகுத்தனா். ஆகவே இது 'பென்டன் மற்றும் டேவிஸ் ப்ளேக் லிப்ட்' முறை என்று அழைக்கப்படுகிறது. இதன் செயல்முறை கீழ்க்கண்டவாறு இருக்கும்.

ஒரு பெட்ரி தட்டிலுள்ள அகார் ஊடகத்தில் எ.கோலி வளர்க்கப்படும். அதில் மறு இணைவு அடைந்த பாஜ் துகள்கள்

விடப்பட்டு எ.கோலி பாக்டீரியா தாக்கப்படும். பாஜ் துகள்கள் பாக்டீரியத்தில் பெருக்கமடைந்து பாக்டீரிய காலனிகளின் மேல் ப்ளேக்குகளை உண்டாக்கும். அதன் மேல் ஒரு நைட்ரோசெல்லுலோஸ் வடிதாளை வைத்து அதில் ப்ளேக்கினுடைய படிகள் (replica) எடுக்கப்படும். அதன்பின் வடிதாளை ஒரு கார திரவத்தில் வைத்து பாஜ் DNA சிதைக்கப்படும். வடிதாள் 80^0Cயில் வைக்கப்பட்டு DNA அதில் நன்கு பிணைக்கப்படும். வடிதாள் ^{32}Pஆல் குறியிடப்பட்ட RNA அல்லது DNA புரோப் கொண்ட கலப்பினமாக்கத் திரவத்தில் வைக்கப்படும். இலக்கு DNA இருந்தால் கலப்பினமாக்கம் நடைபெற்று RNA-DNA கலப்பினம் அல்லது DNA-DNA கலப்பினம் உண்டாகும். கலப்பினமாக்கத்திற்குப்பின் வடிதாள் SSC திரவத்தில் கழுவப்பட்டு இணையாமல் இருக்கும் புரோபுகள் அகற்றப்படும். அதன் பின், வடிதாள் தன்னகக் கதிர்வீச்சு முறைக்கு உட்படுத்தப்படும். தன்னகக் கதிர்வீச்சு படத்தில் புரோபுகள் கருப்புநிற புள்ளிகளாகத் தெரியும். அந்த கருப்புநிறப் புள்ளிகளுக்கு இணையான பாக்டீரிய காலனிகள் பெட்ரிதட்டிலிருந்து பிரித்தெடுக்கப்படும். அந்த பாக்டீரியா காலனிகளிலிருந்து மறு இணைவு அடைந்த பாஜ்கள் பிரித்தெடுக்கப்பட்டு எதிர்கால உபயோகத்துக்குப் பயன்படுத்தப்படும்.

iii.சதர்ன் ப்ளாட்டிங்: அத்தியாயம் 9ஐப் பார்க்கவும்.

iv.நார்தர்ன் ப்ளாட்டிங் (Northern blotting): அத்தியாயம் 9ஐப் பார்க்கவும்.

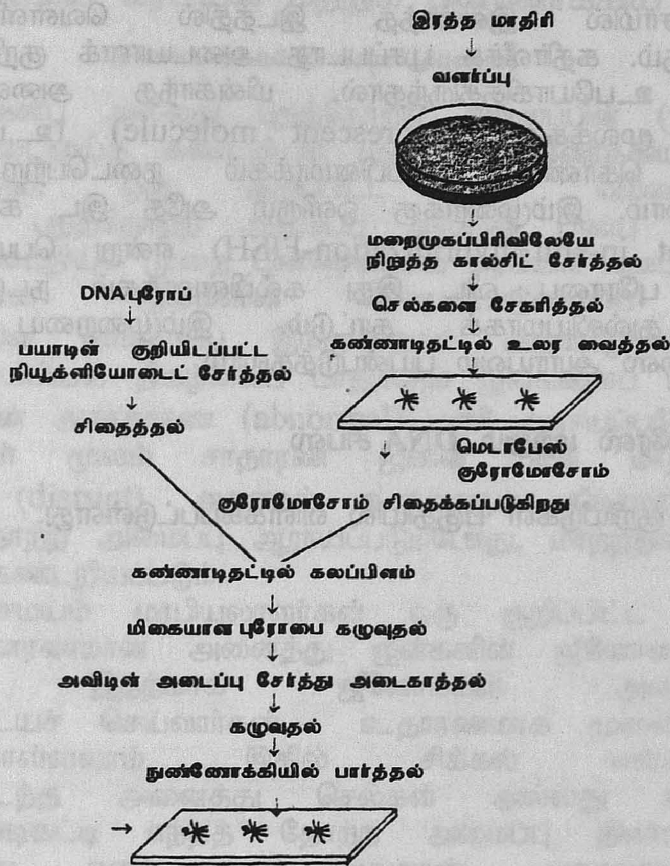
v.டாட் ப்ளாட்,ஸ்பாட் ப்ளாட், ஸ்லாட் ப்ளாட (dot blots, spot blot, slot blot): அத்தியாயம் 9ஐப் பார்க்கவும்.

3. பாலிமரேஸ் சங்கிலி வினை

பாலிமரேஸ் சங்கிலி வினை கலப்பினமாக்கத்தை அடிப்படையாகக் கொண்ட மற்றொரு நுட்பமாகும். விரிவான விளக்கத்திற்கு அத்தியாயம் 9ஐப் பார்க்கவும்.

4. RFLP ஆய்வு முறை

மூலக்கூறு குறியீடுகள் பகுதியில் விளக்கப்பட்டுள்ளது.



படம் 10.13. ஒளிரும் அதே இட கலப்பினமாக்கம் (FISH)

5. அதே இடகலப்பினமாக்கம் (*in situ hybridization*)

இந்த நுட்ப முறையில் அடையாளக் குறியிடப்பட்ட (labelled) DNA புரோப் மெட்டாபேஸ் குரோமோசோமுடன் கலப்பினம் செய்யப்படும். செல்களிலிருந்து மெட்டாபேஸ் குரோமோசோம் வெளியேற்றப்பட்டு ஒரு கண்ணாடி மூடு வில்லையின் (cover slip) புறப்பரப்பில் பிணைக்கப்படும். குரோமோசோம்களிலுள்ள DNAவானது ஓரிழை DNAவாக மாற்றப்படும். புரோப் ^{3}H-நியூக்ளியோடைட் அல்லது கதிர்வீச்சு பூசப்படாத குறியீடு கொண்டு அடையாளக் குறியிடப்படும். பல மணிநேரத்திற்கு குரோமோசோம் மற்றும் புரோபுகள் கலப்பினமாக்க சூழ்நிலையில் வைக்கப்படும். கலப்பினமாக்கம் நடைபெற்றபின் DNA வுடன் இணையாது இருக்கும் புரோபுகள் அகற்றப்படும். DNA வுடன் இணைந்த புரோபுகள் கண்டறியப்படும (படம் 10.13.).

கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட புரோபுகள் உபயோகித்திருந்தால் கண்ணாடி வில்லைகள் (slides) தன்னகக் கதிர்வீச்சுக்கு உட்படுத்தப்படும். புரோபு

குரோமோசோமில் இணைந்த இடத்தில் வெள்ளி துகள்கள் படிந்திருக்கும். கதிர்வீச்சு பூசப்படாத அடையாளக் குறியீடு கொண்ட புரோபை உபயோகித்திருந்தால், மின்காந்த அலை அதிர்வில் ஒளிவீசும் மூலக்கூறு (fluorescent molecule) (உ.ம். பயோடின்-அவிடின்) கொண்டு கலப்பினமாக்கம் நடைபெற்ற இடத்தைக் கண்டறியலாம். இம்முறைக்கு ஒளிரும் அதே இட கலப்பினமாக்கம் (fluorescent in-situ hybridization-FISH) என்று பெயர். கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட புரோபை விட இது கல்பினமாக்கம் நடந்த பகுதியை மிகவும் துல்லியமாகக் காட்டும். இம்முறையை இடைநிலை நியூக்ளியஸை ஆராயவும் பயன்படுத்தலாம்.

6 .DNA அரேஸ் மற்றும் DNA சிப்ஸ்

மூலக்கூறு குறியீடுகள் பகுதியில் விளக்கப்பட்டுள்ளது.

11.முன்னோக்கிய மரபியல் மற்றும் பின்னோக்கிய மரபியல்

(Forward and Reverse Genetics)

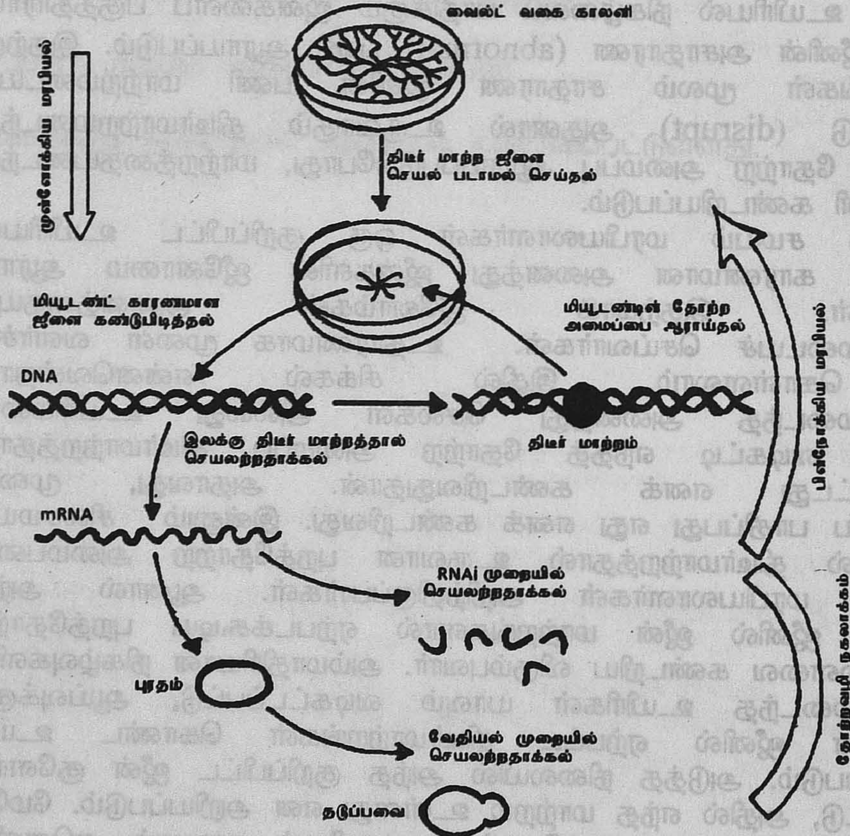


ஒரு பண்பு அல்லது புறத்தோற்ற அமைப்பின் (phenotype) அடிப்படையைக் கண்டறியும் முறை **முன்னோக்கிய மரபியல்** எனப்படும். ஒரு குறிப்பிட்ட ஜீன் வரிசையிலிருந்து எம்மாதிரியான புறத்தோற்ற அமைப்பு அல்லது பண்பு உருவாகும் என்பதைக் கண்டறியும் முறை **பின்னோக்கிய மரபியல்** எனப்படும்.

பொதுவான ஜீன்களின் செயல்பாடுகளைப் பகுத்து ஆய்வதற்காகவே (analysis) இம்முறைகள் பயன்படுகின்றன. ஒரு குறிப்பிட்ட உயிரியல் நிகழ்வைப் பாதிக்கும் ஜீன்களைப் பகுத்தாராய முதலில் ஜீனின் அசாதாரண (abnormal) பணி ஆராயப்படும். இதற்கு திடீர்மாற்றங்கள் மூலம் சாதாரண ஜீனின் பணி மாற்றமடையச் செய்யப்பட்டு (disrupt) அதனால் உருவாகும் திடீர்மாற்றமடைந்த உயிரியின் தோற்ற அமைப்பு ஆராயப்படும்போது, மாற்றத்தையடைந்த ஜீனின் பணி கண்டறியப்படும்.

சில சமயம் மரபியலாளர்கள் ஒரு குறிப்பிட்ட உயிரியல் நிகழ்விற்கு காரணமான அனைத்து ஜீன்களின் ஜீனோமை ஆராய செய்வார்கள். இதற்காக ஜீனோம்கள் அனைத்தையும் திடீர்மாற்றமடையச் செய்வார்கள். உதாரணமாக மூளை வளர்ச்சி எனக் கொள்ளலாம். இதில் சிக்கல் என்னவென்றால் திடீர்மாற்றமடைந்த அனைத்து செல்கள் அல்லது உயிரிகளை ஆராய்ந்து வடிகட்டி எந்தத் தோற்ற அமைப்பு திடீர்மாற்றத்தால் பாதிக்கப்பட்டது எனக் கண்டறிவதுதான். அதாவது, மூளை வளர்ச்சியை பாதிப்பது எது எனக் கண்டறிவது. இன்னும் சிலசமயம் ஒரு ஜீனில் திடீர்மாற்றத்தால் உருவான புறத்தோற்ற அமைப்பை, ஏற்கனவே மரபியலாளர்கள் அறிந்திருப்பார்கள். ஆனால் அந்த குறிப்பிட்ட ஜீனில் ஜீன் மாற்றங்களால் ஏற்படக்கூடிய புறத்தோற்ற மாற்ற விளைவை கண்டறிய விரும்புவார். அம்மாதிரியான நிகழ்வுகளில் திடீர்மாற்றமடைந்த உயிரிகள் யாவும் வடிகட்டப்பட்டு, ஆய்வுக்குத் தேவையான ஜீனில் ஏற்பட்ட திடீர்மாற்றங்கள் கொண்ட உயிரி கண்டறியப்படும். அடுத்த நிலையில் அந்த குறிப்பிட்ட ஜீன் குளோன் செய்யப்பட்டு, அதில் எந்த மாற்றம் உள்ளது என அறியப்படும். மேலே விவரித்த யாவற்றையும் **முன்னோக்கிய மரபியல்** எனலாம். ஏனெனில் மரபியலாளர்கள் முதலில் கடத்தக்கூடிய தோற்ற அமைப்புகளில் துவங்கி ஜீன் அளவில் அடையக்கூடிய மாற்றங்களுக்கு வருகிறார்கள். பின்னரே திடீர்மாற்றமடைந்த உயிரிகளில் மூலக்கூறு அளவில் நடந்த மாற்றங்களை ஆராய்கிறார்கள்.

இருப்பினும், இன்றைய ஆய்வுகள் தலைகீழ் திசையில் நடக்கின்றன. ஒரு ஆய்வாளர் முதலில் தேவையான ஒரு வரிசை DNA அல்லது RNA அல்லது ஒரு புரதத்தை எடுத்துக்கொண்டு அது எவ்வாறு உயிரியை பாதிக்கின்றது எனக் கண்டறியத் துவங்குகிறார்கள். இவற்றை குறிக்கும் ஜீன் திடீர்மாற்றமடைந்தால், புறத்தோற்ற அமைப்பு, எவ்வாறு பாதிக்கப்படும் என்பது ஆராயப்படுகிறது. ஒரு மூலக்கூறில் துவங்கி அது குறிக்கும் ஜீனை திடீர்மாற்றமடையச்செய்து புறத்தோற்ற அமைப்பை ஆராயும் இம்முறை பின்னோக்கிய மரபியலாகும். இம்முறைகள் இரண்டும் படம் 11.1.ல் விளக்கப்பட்டுள்ளது.



படம் 11.1. முன்னோக்கிய, பின்னோக்கிய மரபியல் முறைகள்

முன்னோக்கிய மரபியல்

இதில் வைல்ட் வகை ஜீனோமில் துவங்கி, அதை திடீர்மாற்றிகளால் (மியூட்டாஜன்கள்) அங்கொன்றும் இங்கொன்றுமாக திடீர்மாற்ற மடையச்செய்து, திடீர்மாற்றம் நடந்துள்ளதா என்பதை நன்கு ஆராய்ந்து அதை புறத்தோற்ற அமைப்புடன் தொடர்பு படுத்தப்படும்.

இம்முறை சிலசமயம் 'திடீர்மாற்றிகள் வேட்டை' (mutant-hunt) எனப்படுகிறது.

முன்னோக்கிய மரபியலுக்கு பயன்படும் மியூட்டாஜன்கள்

சரியான மியூட்டாஜன்கள் பயன்படுத்துவது முன்னோக்கிய மரபியலுக்கு மிக அவசியமாகும் ஒரு ஜீனோமிலுள்ள ஒவ்வொரு ஜீனிலும் திடீர்மாற்றத்தை ஏற்படுத்த மரபியலாளர்கள் முயற்சிப்பார்கள். DNA மீது தாக்கம் ஏற்படுத்தும் மியூட்டாஜன்கள் பயன்படுத்தப்படும். மேலும் ஒரு ஜீனோமில் பல திடீர்மாற்றங்கள் ஏற்படுத்தப்பட்டால் மரபியல் ஆய்வை மேற்கொள்வது மிகச்சிரமமாய்விடும். மேலும் செல்களும் இறந்துவிடும் வாய்ப்பு உள்ளது. நுண்ணுயிரிகளை திடீர்மாற்றமடையச் செய்யும்போது 50 சதவீதம் உயிரிகளாவது உயிரோடிருக்குமாறு மியூட்டாஜன்கள் வகைகளும், அளவும் (dose) பயன்படுத்தப்படும்.

UV கதிர்கள், நைட்ரஸ் அமிலம், நைட்ரஸோ குவானிடின் போன்ற வேதிப்பொருட்கள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. பொதுவாக ஜீன்களில் திடீர் மாற்றங்களை எற்படுத்தும் மியூட்டாஜன்கள் சிறந்தது ஏனெனில், அவை ஜீனை பல வழிகளில் மாற்றுகின்றன. அதில் ஏதாவது ஒன்று தேவையான பணி மாற்றங்களை ஏற்படுத்தும். பெரிய அளவிலான மாற்றங்களுக்கு காமா கதிர்கள் பயன்படும்.

முன்னோக்கிய மரபியலில் டிரான்ஸ்போசான்கள் முக்கிய மியூட்டாஜன்களாகப் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. செல்லுக்குள் நுழைக்கப்பட்ட உடனே, அவை எந்த நியூக்ளியோடைட் வரிசையுடனாவது போய் சேர்ந்து கொள்ளும். அது எங்கு சென்று இணைந்ததோ, அந்த இடத்தால் நிகழக்கூடிய மாற்றத்தை PCR உதவியால் எளிதாய் கண்டறியலாம். இதற்கு **டிரான்ஸ்போஸான் கண்டறிதல்** (tagging) என்று பெயர்.

முன்னோக்கிய மரபியலில் திடீர்மாற்றங்களைக் கண்டறியும் முறைகள்

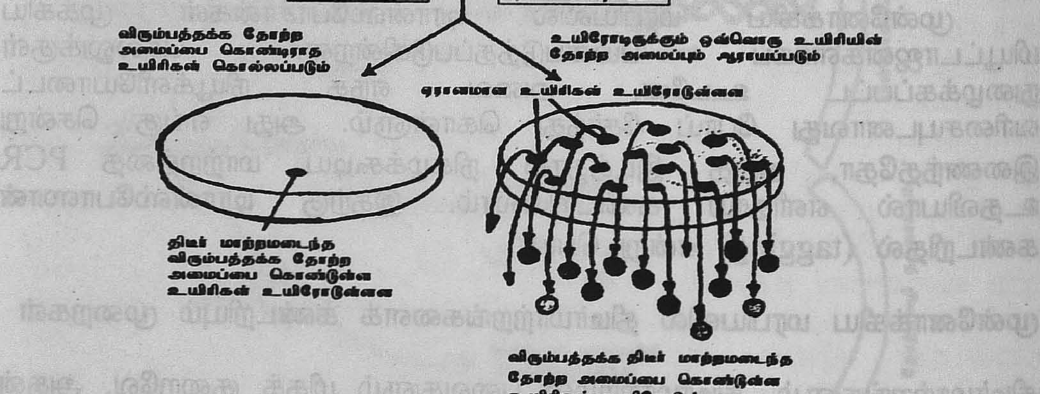
திடீர்மாற்றங்களும், திடீர்மாற்றமடைபவைகளும் மிகக் குறைவே. அதன் நிகழ்வெண் 10^{-5} அல்லது அதற்கும் குறைவு. ஆகவே அவற்றை கண்டறிய சிறந்த முறைகள் தேவை. இருமுறைகள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

1. மரபியல் தேர்வு (genetic selection)
2. மரபியல் வடிகட்டல் (genetic screening).

1. மரபியல் தேர்வு

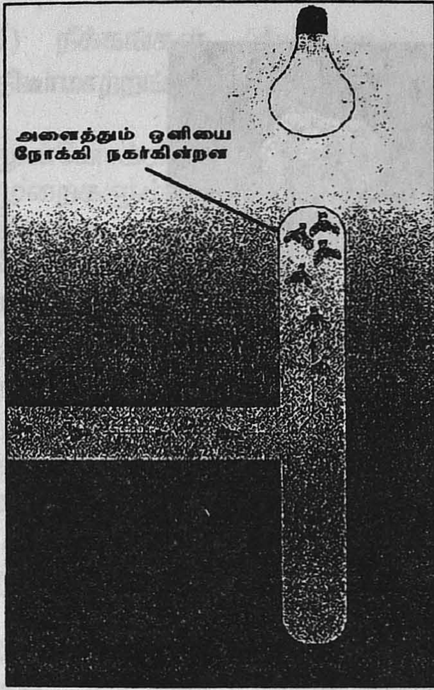
சில திடீர்மாற்ற சோதனைகள் தேவைப்படும் திடீர்மாற்றமடைந்த தோற்றஅமைப்பு மாத்திரம் உயிரோடிருக்குமாறோ அல்லது

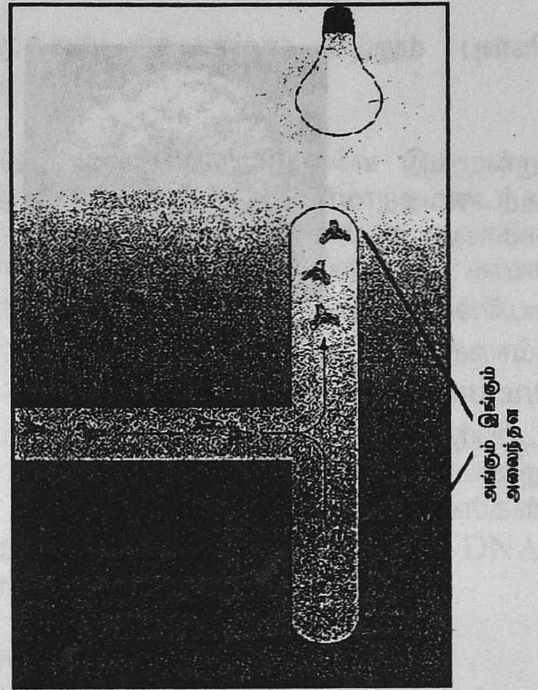
இரட்டிக்குமாறோ திறம்பட வடிவமைக்கப்படும். இதற்கு மரபியல் தேர்வு என்று பெயர் (படம்11.2.). நுண்ணுயிரிகள் இம்மாதிரியான சோதனைக்கு ஏதுவானவை. தேர்ந்தெடுக்கும் இயக்கிகள் (agent) செயல்படும் குறிப்பிட்ட பொருட்களை வளர் ஊடகங்களில் (media) சேர்த்து அவற்றை பெட்ரிதட்டுகள் அல்லது சோதனை குழாய்களில் இட்டு ஏராளமான எண்ணிக்கையில் நுண்ணுயிரிகளை வளர்க்கலாம். விரும்பதக்க தோற்றஅமைப்பை பெறக்கூடிய திடீர்மாற்றங்களைக் கொண்ட நுண்ணுயிரிகளைத்தவிர மற்றவற்றை இந்த இயக்கிகள் கொன்றுவிடும். தேர்ந்தெடுக்கக்கூடிய பல்வேறு வகை தோற்ற அமைப்புகள் உள்ளன. உதாரணமாக (1) ஒரு குறிப்பிட்ட கரிம மூலம் போன்றவற்றை உணவாக பயன்படுத்தும் வகை, (2) ஒரு குறிப்பிட்ட உணவு இல்லாதபோது வளரும் வகை, (3) பல்வேறு தடுப்பான்கள் (inhibitors) அல்லது தீங்குயிர்களை எதிர்க்கும் வகை.



படம் 11.2. மரபியல் தேர்வு. மரபியல் வடிகட்டல் ஒப்பீடு

சிலசமயம் திடீர்மாற்றமடைந்த உயிரிகளின் நடத்தை (behaviour) நுண்ணுயிரிகளை தேர்வு செய்ய பயன்படும். உதாரணமாக டுரோசோபிலாவில் வைல்ட் வகை ஈக்கள் ஒளியை நோக்கி இடம் பெயரும். ஆனால், திடீர்மாற்ற வகையில் இந்த நடத்தையில் தடுமாற்றம் ஏற்படும். ஒரு T வலையை பயன்படுத்தி இவற்றை எளிதில் தேர்ந்தெடுக்கலாம் (படம். 11.3.).



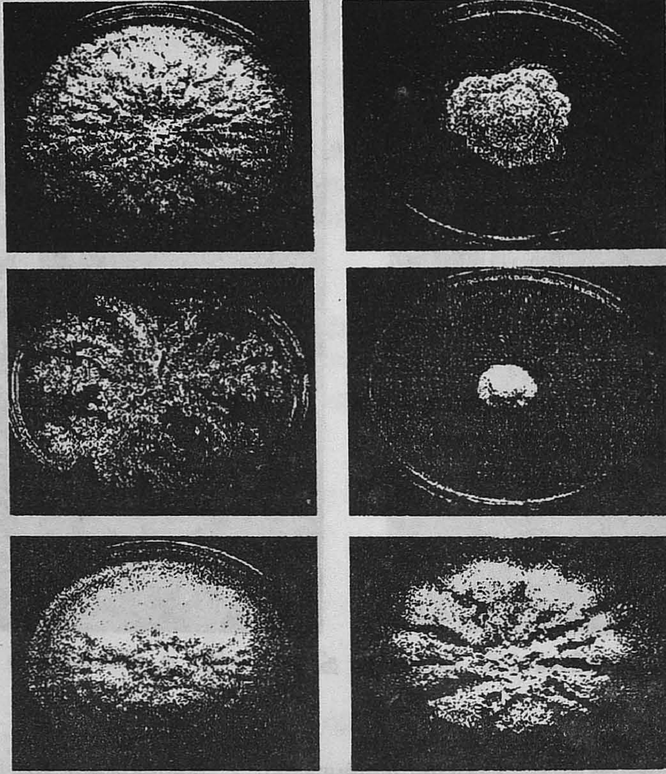


படம் 11.3. டுரோசோபிலாவில் நடத்தை திடீர் மாற்ற உயிரிகளைத் தேர்ந்தெடுத்தல்

2. மரபியல் வடிகட்டல்

தேவையான வகை திடீர்மாற்றங்களை தேர்ந்தெடுக்க ஒவ்வொரு மரபியல் ஆய்வாளரும் ஒரு புத்திசாலித்தனமான செய்முறையை பயன்படுத்துகின்றனர்.

நியூரோஸ்போரா (Neurospora) போன்ற இழைகள் கொண்ட பூஞ்சையின் வடிவ வளர்ச்சியைப் பார்த்தால் அனைத்து திசைகளிலும் கிளைகளை விரித்து நீண்டு வளர்ந்திருப்பதை அறியலாம். இந்த நிகழ்வுகளில் தாக்கம் ஏற்படுத்தும் ஜீன்களில் ஏதாவது மாற்றம் நிகழ்ந்தால் கூட்டுயிரியின் தோற்ற அமைப்பில் மாற்றங்கள் ஏற்படும் (படம் 11.4.).



படம் 11.4. நியூரோஸ்போராவின் இழைகளின் வடிவ வளர்ச்சி மாற்றம்

ஆகவே ஒரு பெரிய ஹப்ளாய்டு செல்கள் (haploid cells) இனக்கூட்டத்தை திடீர்மாற்றமடையச்செய்து, அவற்றை அதிக அடர்வில் பெரிய பெட்ரிதட்டுகளில் வளர்த்து, அதன் கூட்டுயிரி தோற்றங்களில் மாற்றங்களை அறியலாம். பூஞ்சையின் செல் சட்டகத்திற்கு காரணமான ஆக்டின், டைனாக்டின், டெனின் போன்றவற்றின் ஜீன்களில் ஏற்படும் மாற்றங்கள் அறியப்படுகின்றன.

பின்னோக்கிய மரபியல்

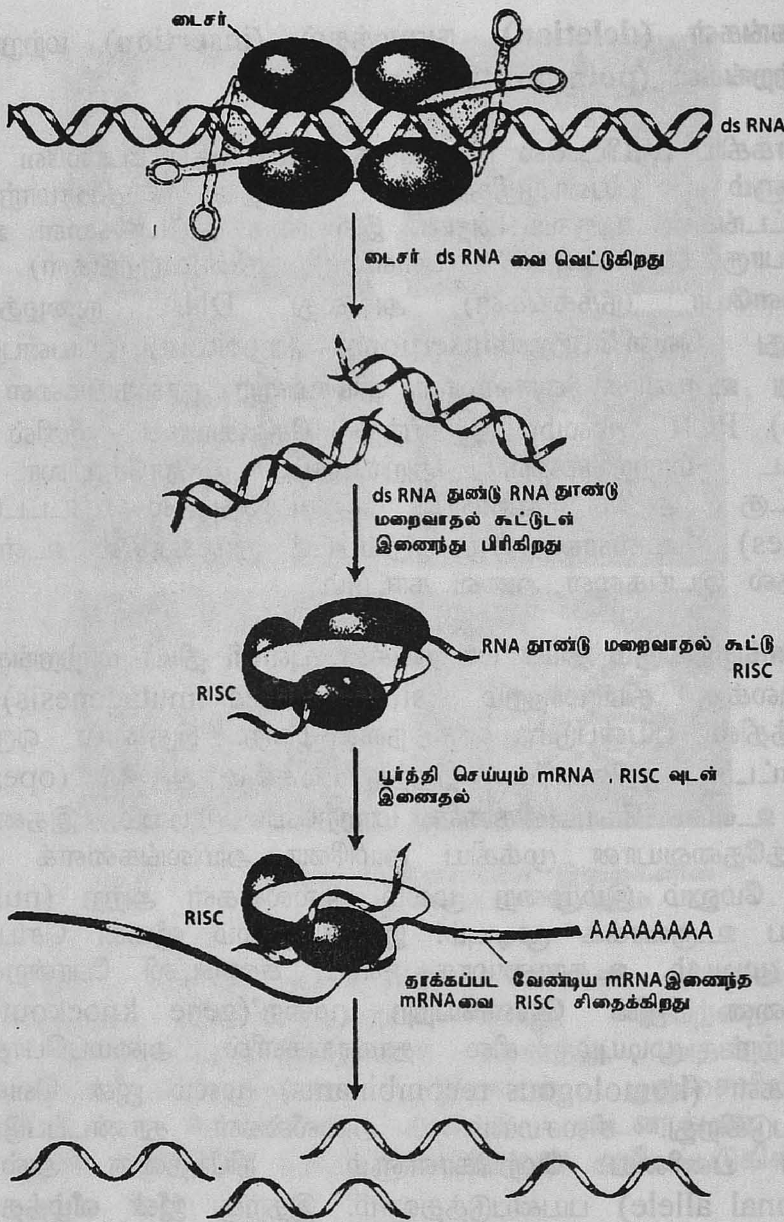
ஒரு குறிப்பிட்ட ஜீன் வரிசை உயிரியில் ஏற்படுத்தும் குறிப்பிட்ட தாக்கத்தை கண்டறிவது இதன் நோக்கம். இதில் ஒரு தோற்ற வழி அமைப்பின் மீது ஒரு ஜீன் ஏற்படுத்தும் தாக்கம் அல்லது அந்த ஜீன் வரிசையின் உயிரிய பணி ஆகியவை கண்டறியப்படுகிறது. ஒரு DNA வரிசையில் மாற்றம் ஏற்படுத்தப்பட்டு, அம்மாற்றத்தால் ஏற்படும் தோற்றவழி அமைப்பு மாற்றமறிய பல வழிகள் உள்ளன.

1) நீக்கங்கள் (deletion), நுழைத்தல் (insertion) மற்றும் புள்ளி திடீர்மாற்றங்கள் (point mutations)

முன்னோக்கிய மரபியலில் பயன்படுத்தப்பட்டதைப் போலவே இம்மூன்று முறைகளும் பயன்படுத்தப்பட்டு அதிக திடீர்மாற்றமடைந்த இனக்கூட்டங்கள் உருவாகின்றன. இவ்வகை கூட்டங்களை உருவாக்க வேதிப்பொருட்களையோ (புள்ளி திடீர்மாற்றங்கள்) காமா கதிர்களையோ (நீக்கங்கள்) அல்லது DNA நுழைத்தலையோ (நுழைத்து வெளியேற்றல்-insertional knockout) பயன்படுத்தலாம். அவ்வாறு உருவான ஏராளமான **திடீர்மாற்ற நூலகங்களை** (mutant libraries) PCR மூலம் ஆராய்ந்து தேவையான ஜீனில் ஏற்பட்ட குறிப்பிட்ட மாற்றங்களை அறியலாம். டுரோசோபிலா போன்ற உயிரிகட்கு அதிக அளவில் இன்டர்நெட்டில் டேட்டாபேஸ்கள் (databases) உள்ளன. ஒரு குறிப்பிட்ட நூலகத்தில் உள்ள DNA நுழைத்தல் இடங்களை அவை காட்டும்.

2) ஜீனைக்குறிக்கும் திடீர் மாற்றங்கள், புள்ளி திடீர் மாற்றங்கள்

குறி இலக்கு திடீர்மாற்றம் (site directed mutagenesis) என்பது தற்காலத்தில் பயன்படும் ஒரு நவீனமுறை. இதனால் ஒரு ஜீனின் புரோமோட்டர் பகுதியையோ, திறந்த படிக்கும் அச்சில் (open reading frame) உள்ள கோடான்களை மாற்றவோ முடியும். இதனால் புரத பணிக்குத்தேவையான முக்கிய அமினோ அமிலங்களைக் கண்டறிய முடியும். மேலும் இம்முறை மூலம் அல்லீல்கள் அற்ற (null alleles) நிலையை உருவாக்க முடியும். இதன் மூலம் ஜீனை செயலற்றதாய் செய்ய முடியும். உதாரணமாக ஈஸ்ட், சுண்டெலி போன்றவைகளில் ஒரு ஜீனை **'ஜீன் வெளியேற்ற முறை'**(gene knockout) மூலம் வெளியேற்ற முடியும். சில தாவரங்களில் அமைப்பொத்த மறு இணைவுகள் (homologous recombinants) மூலம் ஜீன் வெளியேற்றம் செய்யப்படுகிறது. சிலசமயம் அல்லீல்கள் தூண்டப்படும் வரை சாதாரண பணியை மேற்கொள்ளும் நிபந்தனை அல்லீல்களை (conditional allele) பயன்படுத்தலாம். இதற்கு **ஜீன் வீழ்த்தல்** (gene knocking) என்று பெயர். இவை lox அல்லது frt போன்ற ரீகாம்பினேஸ் இடங்களில் ஜீன் வீழ்த்தலை நிகழ்த்தும். சில குறிப்பிட்ட ரீகாம்பினேஸ் (CRE, FLP) தூண்டப்படும்போது தேவையான ஜீனில் நீக்கத்தை ஏற்படுத்தும்.



படம் 11.5. RNAi செயல்படும் விதம்

3) RNA குறுக்கீடு - RNAi (ஜீன் அமைதியாதல்-gene silencing)

இம்முறையில் ஒரு ஜீனின் அமைப்பொத்த வரிசைகளைப் பூர்த்தி செய்யுமாறு ஒரு இரட்டை இழை RNA உருவாக்கப்பட்டு செல்லுக்குள் நுழைக்கப்படுகிறது. இதன் காரணமாக mRNA உற்பத்தி பல மணி நேரமோ, நாட்களோ குறைந்துவிடுகிறது. இதனால் அந்த ஜீனின் வெளிப்பாடு நின்று விடும். டுரோசோபிலா போன்ற உயிரியில் இம்முறை பயன்படுகிறது. இதற்கு **ஜீன் அமைதியாதல்**

(gene silencing) என்று பெயர். இம்முறையில் செல்லுள் நுழைக்கப்பட்ட இரட்டை இழை RNA, டைசர் (dicer) எனப்படும். மூலக்கூறு கூட்டால் 22 நியூக்ளியோடைட் நீளம் கொண்ட 2 துண்டுகளாக வெட்டப்படுகிறது (படம் 11.5.). RNAi எனப்படும் இந்த துண்டுகள் RNA துண்டு அமைதியாதல் கூட்டுடன் (RNA induced silencing complex) இணைகிறது. இந்த கூட்டின் RNAவான வழிகாட்டி RNA (guide RNA) இந்த கூட்டிற்குள் ஊடுருவியுள்ள RNAiற்கு பூர்த்தி செய்யும் mRNAக்களை கண்டறிய உதவுகிறது. தாக்கப்பட வேண்டிய mRNAவுடன் இணைந்தபின், இந்த கூட்டு அந்த mRNAவை சிதைத்துவிடுகிறது. இப்போது mRNAக்களே இல்லாததால், மொழிபெயர்த்தல் நின்றுபோய் திடீர் மாற்றமடைந்த தோற்ற அமைப்பை அந்த உயிரி வெளிப்படுத்துகிறது.

4) வேதியல் மரபியல் (Chemical genetics-Chemigenomics)

ஒரு தடுக்கும் மூலக்கூறு இணைவதன் மூலம் தேவைப்படும் ஜீன் உற்பத்தி செய்யும் புரதப்பொருளின் செயல்பாட்டை குறைக்கும் முறை இது. RNAi மற்றும் வேதியல் மரபியல் முறைகள் ஒரு குறிப்பிட்ட ஜீனின் பணியில், அந்த ஜீனின் DNA வரிசை மாறாமல் குறுக்கிடுகின்றன. இம்முறைகள் **தோற்றவழி நகலாக்கம்** (phenocopying) எனப்படுகின்றன.

12. பாக்டீரியாக்கள் மற்றும் அவற்றின் வைரஸ்களின் மரபியல்

(Genetics of Bacteria and their Viruses)



உயிரினங்களின் செல்களில், ஜீன்கள் ஒரு தலைமுறையிலிருந்து பாரம்பரியப் பண்புகளை மற்றொரு தலைமுறைக்கு கடத்தும் செயலை, ஆரம்ப காலம் முதல் மேற்கொண்டுள்ளன. பாரம்பரிய பண்புகளைக் கடத்தும் செயலை ஜீன்கள் இரட்டிப்படைதல் மற்றும் தகவல்களை செயல்களாக மாற்றுவது என்ற இரு கோட்பாடுகள் மூலம் நடத்துகின்றன. பாரம்பரிய பண்புகளை கடத்தும் பொருட்கள் அனைத்து உயிரிகளிலும் பொதுவானவை என்றாலும், புரோகேரியோட்டுகளில் உள்ள மரபுப் பொருட்கள் யூகேரியோட்டுகளில் காணப்படும் மரபுப் பொருட்களிலிருந்து மாறுபடுகிறது.

பாக்டீரியாக்களின் மரபியல்

புரோகேரியோட்டுகளின் மரபுப்பொருட்கள் எளிதானவை. பல ஆய்வுகளை மேற்கொள்ளவும், நிதர்சனமான முடிவுகளை கண்டறியவும் பாக்டீரியாக்கள் சோதனைப் பொருட்களாக பயன்படுத்தப்படுகின்றன. முக்கியமாக, ஜீன்கள் சார்ந்த சோதனைகளை செய்து முடிக்கத் தேவையான அனைத்து சாதகப்பண்புகளையும் கொண்டுள்ளன.

பாக்டீரியாக்களின் சாதகப்பண்புகள்

1.பாக்டீரியாக்கள் பற்றிய முழுமையான அறிவியல் ஆய்வுகள்,
2.அதிக எண்ணிக்கையில் வளர்ப்பு செய்யும் முறைகள்,
3.எளிதாக பல்கி பெருகும் தன்மை,
4.அவற்றின் அடங்கு பொருட்களை தனியாக பிரித்தெடுக்கும் தொழில்நுட்பங்கள்,
5.அவற்றின் கூட்டுப்பொருட்கள் மற்றும் வேதிய பொருட்கள் பற்றிய முழுமையான தகவல்கள்,
6.உயிர்-வேதிய பொருட்கள் உற்பத்தி செய்யும் தன்மை,
7.அவற்றின் மரபியல் பற்றிய முழுமையான ஆய்வுகள்,
8.வளர் ஊடகங்களில் திடீர்மாற்றங்களை ஏற்படுத்தும் வழிமுறைகள்,
9.திடீர் மாற்றங்களை உடனே வெளிப்படுத்தும் பண்பு,
10.அரிய வகை திடீர் மாற்ற இனவழிகள் தோற்றுவித்தல்.

பாக்டீரியாக்களின் குரோமோசோம்கள்

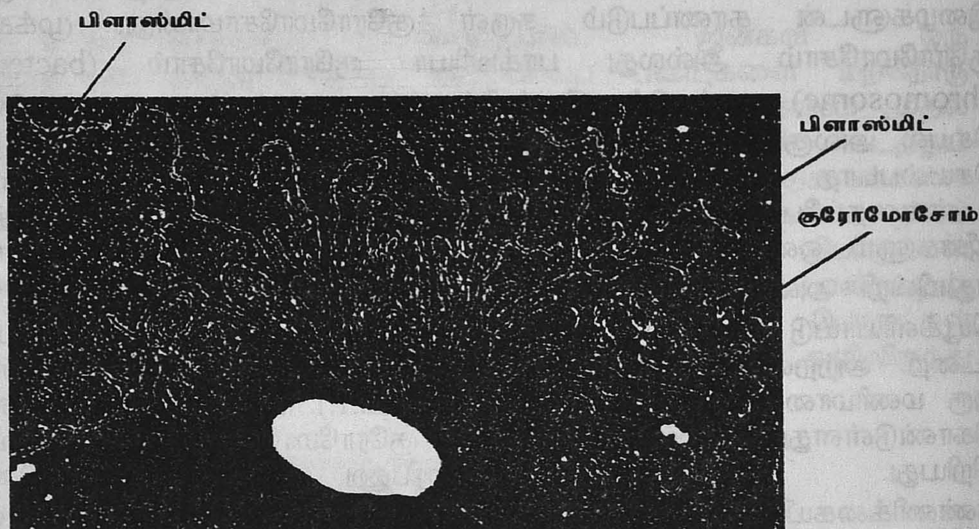
பாக்டீரியாக்களில் இருவகையான குரோமோசோம்கள் காணப்படுகின்றன. வட்டவடிவமான, அளவில் பெரிதான, இரு இழைகளுடன் காணப்படும் சுருள் குரோமோசோமானது, முக்கிய குரோமோசோம் அல்லது **பாக்டீரியா குரோமோசோம்** (bacterial chromosome) எனப்படும். இவற்றில் **எக்ஸான்கள்** (exons) என்கின்ற செயல் அலகுகள் மட்டுமே உள்ளன. **இன்ட்ரான்கள்** (introns) எனும் செயல்படாத இடை அலகுகள் யூகேரியோட்டுகளில் உள்ளதைப்போல் காணப்படுவதில்லை. எனவே, அனைத்து ஜீன்களும் ஒன்றைத்தொடர்ந்து மற்றொன்றாக, இடைவெளி பிரிவுகள் ஏதுமின்றி அமைந்துள்ளன. இந்த வட்டவடிவ ஈரிழை சுருள் DNA நியூக்ளியாய்டு (nucleoid) என்று அழைக்கப்படும். இவை நியூக்ளியஸ் உறை அற்றவை. பாக்டீரியாவின் சைட்டோபிளாசத்தில், பரவலாக, ஒரு மணிமாலைபோல இருக்கும் (படம் 12.1.). பல நூறு ஜீன்களைக் கொண்டுள்ளது. மற்றொரு வகை குரோமோசோமானது, அளவில் சிறியது. வட்டவடிவமான மரபணு கடத்திகள். இவை எண்ணிக்கையில் அதிகமாக இருக்கும். **பிளாஸ்மிட்கள்** (plasmids) என்றும், **எபிசோம்கள்** (episomes) அல்லது f – காரணிகள் (f – factor) என்றும் அழைக்கப்படும். இவை மரபுப்பொறியியல் ஆய்வில் அயல் DNAவைக் கடத்த உதவும் முக்கியச் செயலைச் செய்யும் உபகரணமாகும்.

பாக்டீரியாவின் முக்கிய குரோமோசோம் செய்யும் பணிகள்: பாக்டீரியாவின் தோற்ற அமைப்பு, செயல்பாடுகள், புரதங்கள் உற்பத்தி மற்றும் இனப்பெருக்கம் ஆகியவற்றைக் கட்டுப்படுத்தல் ஆகும்.

பாக்டீரியாக்களில் கண்டறிந்த ஆய்வுகள்

புரதத் தயாரிப்பு நிகழ்வுகள் முதலில் புரோகேரியோட்டு செல்களில்தான் முழுமையாக ஆய்ந்தறியப்பட்டது. படிஎடுத்தல் (transcription) மற்றும் மொழிபெயர்த்தல் (translation) என்ற இரு பெரும் கோட்பாடுகள் விளக்கப்பட்டது, பாக்டீரியாக்களில்தான். பாக்டீரிய செல்லுள் பொருட்கள், அவற்றின் கூட்டு வேதிப் பொருட்கள் மற்றும் பயன்கள், ஆராய்ச்சிகள் மூலம் கண்டறியப்பட்டன. ஜீன்களின் மூலக்கூறு அமைப்பு, அவை செயல்படும் விதம், ஜீன்களின் ஒழுங்குபாடு போன்ற செயல்கள் விளக்கப்பட்டன. மரபியல் குறியீடுகள் கொண்ட பாக்டீரிய இனங்கள், அவற்றின் ஜீனோம்கள் மற்றும் புரதத் தயாரிப்பு பற்றியும் விரிவான ஆய்வுகள் மேற்கொள்ளப்பட்டன. மேலும், மரபியல்

குறியீட்டு ஜீன்கள் மற்றும் அவற்றைப் பயன்படுத்தும் முறைகள் கண்டறியப்பட்டன.



படம் 12.1. பாக்டீரியா குரோமோசோம்

பாக்டீரியாக்களில், செல்பிரிதல் என்பது யூகேரியோட்டுகளில் காணப்படுவதுபோல் குன்றல் பிரிவு மற்றும் மறைமுகப்பிரிவு என நடைபெறுவதில்லை. ஏனெனில், இவற்றில் முழுமையான நியூக்ளியஸ் மற்றும் நியூக்ளியஸ் உறை இல்லை. ஆனால், பாக்டீரிய குரோமோசோம்கள் இரட்டிப்படைந்து இரு செல்களாக பிரிகின்றன. ஜீன்கள் மூலம் பாரம்பரிய பண்புகளை தனது சந்ததிகளுக்குப் பல வழிகளில் கடத்துகின்றன. சிறு மாற்றங்கள் கூட பெரிய திருப்பங்களை ஏற்படுத்தும். புதிய இனவழிகளை உருவாக்க திடீர் மாற்றங்கள் காரணமாகின்றது. வளர் ஊடகங்களின் மாற்றங்கள் சில பண்புள்ள இனவழிகளைத் தோற்றுவிக்கும். புரோட்டோட்ராப்புகள் ஆக்ஸோட்ரோப்புகளாக மாற்றப்பட்டன (வளர் ஊடகத்தில் ஒரு குறிப்பிட்ட துணை அலகுகள் சேர்க்கப்பட்டால் மாத்திரமே வளரும் திறன் கொண்டவை ஆக்ஸோட்ரோப்புகள்-auxotrophs, குறைந்தபட்ச வளர் ஊடகத்தில் எவ்விதமான துணை அலகுகள் சேர்க்கப்பட்டாமலே வளரும் திறன் கொண்டவை புரோட்டோட்ராப்புகள்-prototrophs). மேலும் ஊடகப் பொருள்களின் திறனைத் தாங்கும் சக்தியுடைய பாக்டீரிய இனவழிகள் தோற்றுவிக்கப்பட்டன.

உணவு ஊடகங்களும் ஜீன் குறியீடுகளும்

கீழ்காணும் அட்டவணையில் சில பாக்டீரிய இனங்களில் காணப்படும் ஜீன் அமைப்புகள் எவ்வாறு உணவு ஊடகங்களில் வளரும் தன்மையுள்ளவை என்பது தெளிவாகிறது, இவை குறியீட்டு ஜீன்களாக உபயோகப்படுகின்றன (அட்டவணை 12.1.).

அட்டவணை 12.1.

பாக்டீரிய ஜீன்கள்	உணவு குறைபாடுடைய ஊடகங்கள்.
bio-	பயாட்டின் குறைவுடைய ஊடகம்.
org-	ஆர்ஜினின் குறைவுடைய ஊடகம்.
met-	மெத்தியோனின் குறைவுடைய ஊடகம்.
lac-	லேக்டோஸ்களை கார்பன் ஆதாரங்களாகப் பயன் படுத்தாதவை
gal-	கேலக்டோஸ்களை கார்பன் ஆதாரங்களாகப் பயன் படுத்தாதவை.
Str^r	ஸ்ட்ரெப்டோமைஸின் ஊடகத்தில் வளரும் சக்தி உள்ளவை
Str^s	ஸ்ட்ரெப்டோமைஸின் ஊடகத்தில் வளரும் சக்தியற்றவை

பாக்டீரியாக்களில் ஜீன்கள் மாற்றப்படும் முறைகள்

பாக்டீரியாக்களில் ஜீன்கள் மாற்றப்படுவது, பொறியியலில் ஒரு முக்கியமான கண்டுபிடிப்பாகும். ஏனெனில், இது தற்கால உயிர் தொழில்நுட்பவியல், நுண்ணுயிரியல் மற்றும் மூலக்கூறு மரபியல் துறைகள் தோன்றுவதற்கு அடித்தளமிட்ட நிகழ்வாகும். மேலும், DNAதான் பாரம்பரிய குணங்களைக் கடத்துகின்றது என்ற அறிவியல் உண்மையை உலகிற்கு அறிவித்த கண்டுபிடிப்பாகும். பாக்டீரியாக்கள் DNA மூலக்கூறுகளை, ஒரு செல்லிலிருந்து மற்றொரு செல்லுக்கு அல்லது ஒரு பாக்டீரியத்திலிருந்து வேறொரு உயிரியின் செல்லுக்கு பல வழிகளில் மாற்றுகின்றது. அவையாவன:

1.மாற்றம் (டிரான்ஸ்பர்மேஷன்-transformation)

எவ்வித உயிரியல் உதவியுமின்றி ஒரு பாக்டீரியத்திலிருந்து DNA மற்றொன்றக்கு மாற்றப்படுவதற்கு மாற்றம் (டிரான்ஸ்பர்மேஷன்) என்று பெயர். டிரான்ஸ்பர்மேஷன் நிகழ்வில், ஒரு பாக்டீரியா செல் அதை சுற்றியுள்ள ஊடகத்திலிருக்கும் DNAவை தன்னுள் இழுத்துக்

கொண்டு, பெறப்பட்ட ஜீன்களில் சிலவற்றை நகர்த்தி, அந்த ஜீன்களை தன்னுடைய ஜீனோமுடன் ஒத்த-மறு இணைவு (homologous recombination) முறையில் இணைத்துக் கொள்ளும்.

2.இணைதல் (conjugation)

இரு பாக்டீரியா செல்களுக்கு இடையே கலப்பு (இணைவு) ஏற்பட்டு இணைவுக்குழாய் வழியாக ஒரு பாக்டீரியாவின் ஜீன் மற்றொன்றுக்கு மாற்றப்படுவதற்கு **இணைதல்** என்று பெயர். எ.கோலி பாக்டீரியத்தில், குரோமோசோம்கள் அல்லது f-பிளாஸ்மிட்கள் (பால் காரணிகள்) ஒரு செல்லிலிருந்து மற்றொரு செல்லுக்கு இணைதல் முறையில் மாற்றப்படுகின்றன.

படம் 12.2. மரபிய மறுஇணைவுகள்

3.டிரான்ஸ்டக்ஷன் (transduction)

ஒரு பாக்டீரியாவின் ஜீன் மற்றொன்றுக்கு ஒரு தூதுவர் மூலம் மாற்றப்படுவற்கு **டிரான்ஸ்டக்ஷன்** அல்லது **செலுத்துதல்** அல்லது **கடத்துதல்** என்று பெயர். சிலவகையான பாக்டீரியோபேஜ்கள், ஒரு பாக்டீரியாவிலிருந்து ஜீன்களை மற்றொரு புதிய விருந்தோம்பி பாக்டீரியா செல்லுக்குள் நுழைத்து மாற்றங்களை ஏற்படுத்தும்.

4.மரபிய-மறு இணைவுகளை் (genetic recombination)
ஒரே விருந்தோம்பியில் காணப்படும் DNA மூலக்கூறுகள் அதனுடன் தொடர்புடைய பாக்டீரியோபேஜ்களுடன் மரபிய மறுஇணைவுகளை ஏற்படுத்தும்.

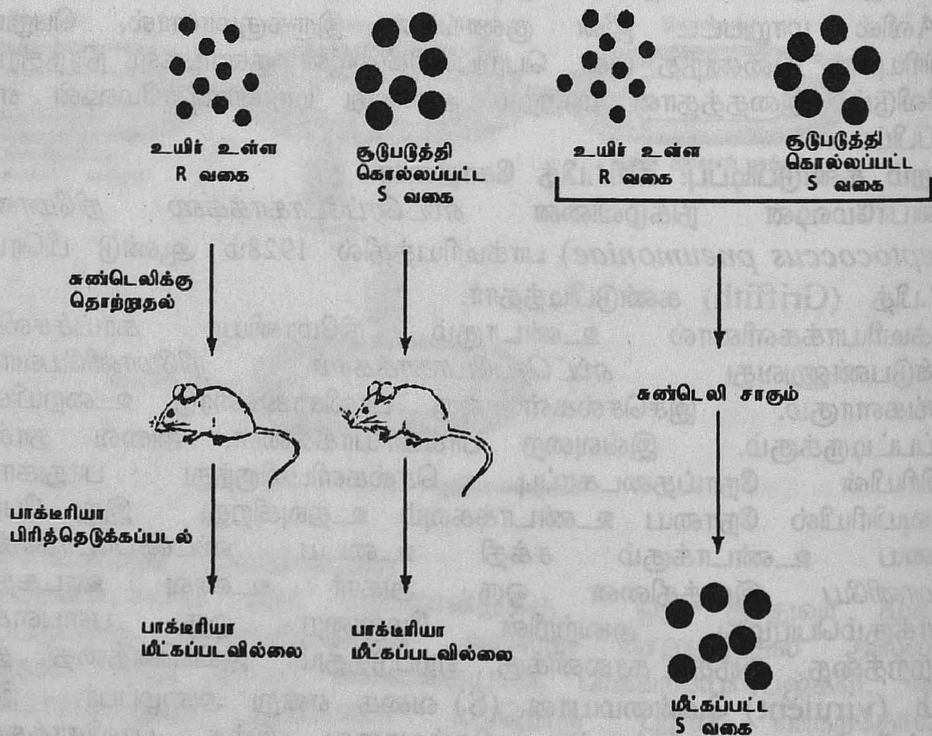
5.சில வைரஸ்கள் அவற்றின் DNAக்களை, அவை சார்ந்து வாழும் விருந்தோம்பியினுள் நுழைத்து, அவற்றுடன் சேர்ந்து இரட்டித்து, அவற்றை விருந்தோம்பி வம்சாவளிகளுக்கு கடத்துகின்றன (படம்12.2.).

பாக்டீரியாக்களில் மாற்றம்
(Bacterial transformation)

சில பாக்டீரியாக்கள், DNA துண்டுகளை வெளி ஊடகத்திலிருந்து தன்னுள் இணைத்துக் கொள்ளும். இந்த DNAக்கள் ஒரே இனத்தைச் சேர்ந்த இரு செல்களிலிருந்தும் இருக்கலாம். அல்லது வெவ்வேறு இனத்தைச் சார்ந்தவையாகவும் இருக்கலாம். சில சமயங்களில் இறந்த செல்களில் இருந்து விடுபடும் DNAவாகக் கூட இருக்கலாம். வேறு சில இடங்களில் உயிருள்ள பாக்டீரிய செல்களிலிருந்து உற்பத்தியாகியவையாக இருக்கலாம். ஆனால் உள்ளிழுக்கப்பட்ட DNA துண்டுகள் பெறுபவர் குரோமோசோமுடன் கலந்துவிடும். இந்த DNAவில் மாறுபட்ட ஜீன் குணங்கள் இருக்குமானால், பெறுபவர் உயிரியுடன் இணைந்த பின், பெறுபவரின் ஜீன் குணங்கள் நிரந்தரமாக மாறிவிடும். இதைத்தான் மாற்றம் அல்லது டிரான்ஸ்பர்மேஷன் என்று குறிப்பிட்டனர்.
மாற்றம் கண்டுபிடிப்பு: கிரி∴பித் சோதனை
டிரான்பர்மேஷன் நிகழ்வினை *ஸ்ட்ரெப்டோகாக்கஸ் நிமோனியே* (*Streptococcus pneumoniae*) பாக்டீரியத்தில் 1928ம் ஆண்டு பிரெட்ரிக் கிரி∴பித் (Griffith) கண்டுபிடித்தார்.
பாக்டீரியாக்களினால் உண்டாகும் நிமோனியா காய்ச்சலினை உண்டுபண்ணுவது *ஸ்ட்ரெப்டோகாக்கஸ் நிமோனியே*வாவின் இனங்களாகும். இச்செல்கள் ஒரு பாலிசாக்கரைடு உறையினால் சூழப்பட்டிருக்கும். இவ்வுறை பாக்டீரியாக்களை, அவை தாக்கும் உயிரியின் நோய்தடைகாப்பு செல்களிடமிருந்து பாதுகாத்து, அவ்வுயிரியில் நோயை உண்டாக்கவும் உதவுகிறது. இது போன்ற நோயை உண்டாக்கும் சக்தி உடைய *ஸ்ட்ரெப்டோகாக்கஸ் நிமோனியே* இனத்தினை ஒரு அகார் உணவு ஊடகத்தில் வளர்க்கும்பொழுது, அவற்றின் மேலுறை ஒரு பளபளக்கும் தோற்றத்தை அந்த காலனிக்கு ஏற்படுத்தும். இவ்வினத்தை தீங்கு தரும் (virulent) மென்மையான (S) வகை என்று அழைப்பர். இதில் தோன்றிய ஒரு தீடீர்மாற்ற நிகழ்வானது இந்த பாலிசாக்கரைடு மேலுறையை உண்டாக்கும் நொதி இல்லாததால், மென்மையான

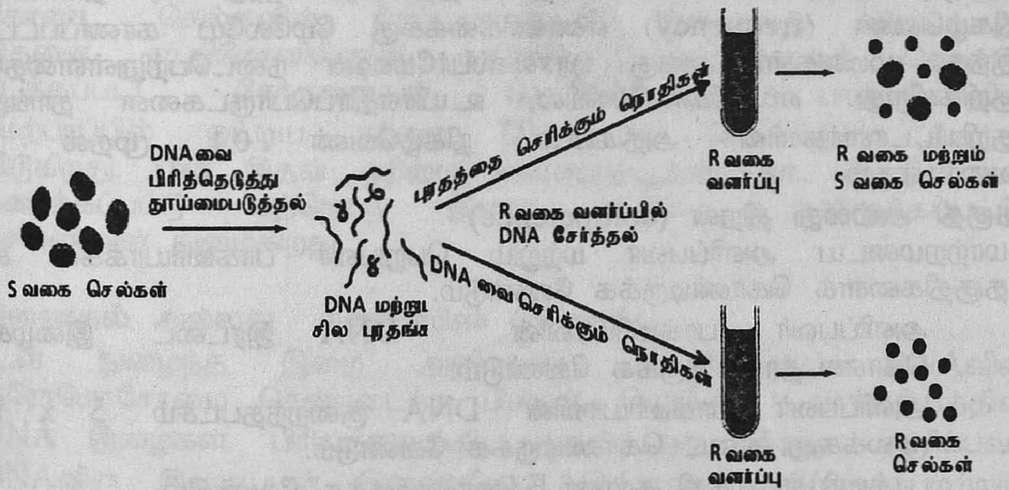
மேலுறையற்ற, ஒழுங்கற்ற பரப்பினை உடைய (avirulent) தீங்கற்ற (R) இனங்களை உருவாக்கியது. பாலிசாக்கரைடு மேலுறை இல்லாததால் (R) இனங்கள் பெறுபவரின் நோய் தடைகாப்பு செல்களால் செயலிழக்கச் செய்யப்படுகின்றன. இவ்விரு இனங்களும் தனித்தனியே இனப்பெருக்கம் செய்து பல்கிப் பெருகும். ஆனால் ஒரு சில கணிக்கமுடியாத திடீர் மாற்றங்களின்போது 'S' வகை பாக்டீரியங்களும் தோன்றும் வாய்ப்புகள் உண்டு.

'R'இன *நிமோகாக்கஸ்* பாக்டீரியங்களை எந்தவிதமான மாற்றங்களில்லாமல் செலுத்தப்பட்ட சுண்டெலிகளும் சூடுபடுத்தி கொல்லப்பட்ட 'S' *நிமோகாக்கஸ்* இன பாக்டீரியங்கள் செலுத்தப்பட்ட சுண்டெலிகளும் இறக்காமல், பாதிக்கப்படாமல் ஆரோக்கியமாக இருந்தன. ஆனால் உயிருள்ள 'R' வகை சிறிதளவும், சூடுபடத்திக் கொல்லப்பட்ட 'S'வகை அதிக அளவுமாக ஒன்று கலந்து செலுத்தப்பட்ட சுண்டெலிகள் நிமோனியாவால் பாதிக்கப்பட்டு இறந்தன. இறந்த சுண்டெலிகளின் இரத்தத்திலிருந்து தனித்தெடுக்கப்பட்ட மாதிரிகளை ஊடகத்தில் வளர்ப்பு செய்யும்போது, தரமான 'S' வகையைச் சேர்ந்த, பாலிசாக்கரைடு மேலுறை கொண்ட, இனகாலனிகள் வளர்ந்தன (படம் 12.3.).



படம் 12.3. கிரி∴பித் சோதனை

இதிலிருந்து தெரியவந்தது என்னவெனில், தீங்குதரும் 'S' இன பாக்டீரியங்கள் கொல்லப்பட்டபோது செயலிழக்கின்றன. ஆனால் அவை, உயிருள்ள 'R'இன பாக்டீரியாக்களுடன் கலந்து அளிக்கப்பட்ட போது நடந்த மாற்றத்தினால் 'S' இன பாக்டீரியாக்கள் 'R' இன பாக்டீரியாக்களை தீங்குயிரியாக (பரிணாம மாற்றம்) செய்து விட்டது. அதன் காரணமாகவே சுண்டெலிகள் இறந்து விட்டன என்பது தெளிவாகிறது. இவ்வாறு 'R' இன *நிமோகாக்கஸ்* பாக்டீரியாவில் நடைபெற்ற ஜீன் மாற்றத்தைத்தான் **டிரான்ஸ்பர்மேஷன்** என்றார் கிரி..பித். அவர் மாற்றப்படும் பொருள் புரதம் என்றார். ஆனால் தற்போதைய டிரான்ஸ்பர்மேஷன் முறையை புரிந்து கொள்ள உதவியது, 1944ல் ஆவ்ரி, மெக்ளியோட் மற்றும் மெகார்டி (Avery,McLeod,McCarty) நடத்திய முக்கிய சோதனையாகும்.



படம் 12.4. பாக்டீரியா மாற்றத்தில் DNA வின் பங்கினை நிருபிக்கும் சோதனை

இவர்கள் 'S' இன பாக்டீரியாவின் DNAவினைத் தனித்துப்பிரித்து அதை 'R' இன காலனி வளர் ஊடகத்தில் மிகக்குறைந்த அளவு சேர்த்தனர். சோதனை முடிவில் அவர்கள் கண்டறிந்தது, 'R' இன காலனி செல்களிடையே தோன்றிய 'S' இன மென்மையான பாலிசாக்கரைடு மேலுறை உடைய காலனிகள். நொதிகள் இணைத்து செய்யப்பட்ட சோதனைகளில் புரதங்களின் பங்கு மாற்றத்தில், ஏதுமில்லை என்பது தெளிவாகியது (படம் 12.4.). அதன் பின்னர் நடத்தப்பட்ட பல்வேறு சோதனைகளின் மூலம் பெறுபவர் DNAக்களுடன் வழங்குபவர் DNAக்கள் இணைவது தெளிவாகியது.

வேறு பலர், மரபியல் மாற்றங்களை செய்பவை DNA என்பதையும், DNA தான் மரபணு பொருள் என்பதையும் விளக்கினர்.

மாற்றத்தின் மூலக்கூறு உயிரியல் (Molecular Biology of Transformation)

ஜீன் மாற்ற நிகழ்வுகளில் டிரான்ஸ்பர்மேஷன் மிக அரிதாக நடைபெறும் செயலாகும். இந்த மாற்றம் நடைபெற்ற நிகழ்வினை, பெறுவோர் செல்கள் வெளிப்படுத்தும் பண்பைக் கொண்டுதான் அறிந்து கொள்ளமுடியும். உதாரணமாக எரித்ரோமைசின் தாங்கும் சக்தி (Ery^S) *ஸ். நிமோனியாவின்* DNAவை, எரித்ரோமைசின் பாதிக்கும் (Ery^s) வளர்ப்புடன் கலந்தனர். ஒரு குறிப்பிட்ட செயல்படும் காலம் கழித்து, எரித்ரோமைசின் உள்ள அகார் ஊடகத்தில் ஏற்றினர். அங்கு தோன்றிய Ery^S காலனிகள், எதிர்பார்த்த Ery^S லிருந்து Ery^s திடீர்மாற்ற நிகழ்வெண் (frequency) எண்ணிக்கைக்கு மேலேயே காணப்பட்டன. இந்த முடிவுகள், அங்கு டிரான்ஸ்பர்மேஷன் நடைபெற்றுள்ளதையே குறிக்கிறது. *ஸ்.நிமோனியா*வில், உயிர்எதிர்ப்பொருட்களை தாங்கும் குறியீட்டாளர்களின் அதிகபட்ச நிகழ்வெண் 0.1 முதல் 1% வரையாகும்.

தகுதி அல்லது திறன் (competence)

மாற்றமடைய அளிப்பவர் மற்றும் பெறுபவர் பாக்டீரியாக்கள் சில தகுதிகளைக் கொண்டிருக்க வேண்டும்.

- அளிப்பவர் பாக்டீரியாவின் DNA இரட்டை இழைகள் கொண்டதாய் இருக்க வேண்டும்.
- அளிப்பவர் பாக்டீரியாவின் DNA குறைந்தபட்சம் 5×10^6 மூலக்கூறு எடை கொண்டிருக்க வேண்டும்.
- பாக்டீரியா தகுதி காரணி F கொண்டிருக்க வேண்டும்.
- அளிப்பவர் மற்றும் பெறுபவர் பாக்டீரியாக்களின் DNA ஒரே இனத்தைச் சார்ந்ததாய் இருக்க வேண்டும்.

இதனையே தகுதி அல்லது திறன் என்கின்றனர். இத்தகுதி பாக்டீரியாவின் வாழ்க்கைச் சுழற்சியில் எப்போதுமே இருக்க வேண்டியதில்லை. சில குறிப்பிட்ட காலத்தில் இருந்தால் மட்டுமே போதுமானது. *நிமோகாக்கஸ்* ஊடகத்தில் வளரத் துவங்கிய 90-100 நிமிடங்களில் கிடைக்கும் மாற்றமடைய தேவையான தகுதி 7-15 நிமிடங்கள் நீடிக்கும். இந்நேரத்தில் மாத்திரமே மாற்றம் நடைபெற இயலும்.பெறுபவர் பாக்டீரியாவின் செல்சுவர் தகுதியுடன் இருப்பது ஒரு முக்கிய அம்சமாகும். ஒரு சாரார், அளிப்பவர் பாக்டீரியாவின் DNA, பெறுபவர் பாக்டீரியாவின் செல்சுவர் மேற்பரப்பின் எந்தப்பகுதியிலும் நுழையும் எனக் கருதுகின்றனர். மற்ற சிலர், பெறுபவர் பாக்டீரியாவின் செல்பரப்பில் பல குறிப்பிட்ட இடங்கள் DNA நுழைவதற்கென்றே

அமைக்கப்பட்டிருக்கின்றன, அவ்விடங்களில் மாத்திரமே DNA நுழைய முடியும் எனக் கருதுகின்றனர்.

ஒட்டுதல் (binding)

அளிப்பவர் பாக்டீரியாவின் DNA முதலில் தற்காலிகமாக பெறுபவர் பாக்டீரியாவின் செல்சுவரில் ஒட்டிக்கொள்கிறது. 4–5 வினாடிக்குப்பின் இந்த ஒட்டுதல் நிரந்தரமாகி விடுகிறது. பாக்டீரியாவின் மேற்பரப்பில் உள்ள சில குறிப்பிட்ட இடங்களில் மாத்திரமே DNA ஒட்டுவதாய் கருதப்படுகிறது.

DNA உட்புகுதல் (penetration)

பெறுபவர் பாக்டீரியாவின் செல்சுவர் அளிப்பவர் பாக்டீரியாவின் DNAவைப் பெறுவதற்கான உணர்விகள் (ரிசப்டார்கள்-receptors) கொண்டு உள்ளன. ஒற்றை இழை DNAக்கள், மாற்றும் தகுதி கொண்ட செல்களில் ரிசப்டார்களுடன் இணைவது கிடையாது. இதனை *ஸ்.நிமோனியே*வில் கதிர்வீச்சு பொருட்களைக் கொண்டு நடத்தப்பட்ட சோதனைகள் தெளிவாக்கியது. பாக்டீரியாவின் மேற்பரப்பில் ஒட்டிய ஈரிழை DNAக்கள் செல்லினுள் புகுந்து விடுகிறது. பின் இதன் ஓரிழை எக்ஸோநியூக்ளியேஸ் நொதியினால் கரைக்கப்பட்டு மற்றொரு இழை மட்டும் உள்ளிழுக்கப்பட்டு, செல்லினுள் நுழைகிறது.

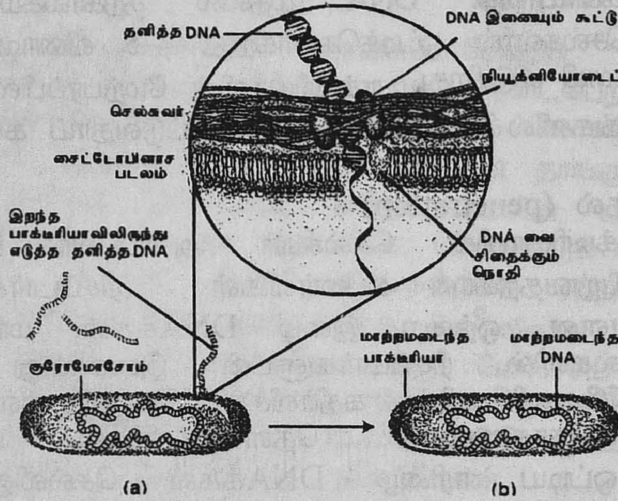
இணைதல் அல்லது சினாப்ஸிஸ் (synapsis)

உள் நுழைந்த இழை அளிப்பவர் பாக்டீரியத்தின் DNAவின் குரோமோசோமை சென்றடைந்த பின்னர், பெறுபவர் பாக்டீரியத்தின் DNA இழைகள் பிரியத்துவங்கி, அதன் ஒரு இழை அளிப்பவர் DNAவின் இழையுடன் இணைகிறது. இவ்வாறு அளிப்பவர் மற்றும் பெறுபவர் பாக்டீரியாக்களில் DNAக்கள் அமைப்பொத்த இடங்கள் இணைவதற்கு சினாப்ஸிஸ் (synapsis) என்று பெயர்.

ஒருமித்தல் (integration)

பெறுபவர் பாக்டீரியாக்களில் DNA இழையுடன் இணைந்தது போக மீதம் இரு புறங்களிலும் இணையாமல் நீட்டிக்கொண்டிருக்கும் அளிப்பவர் DNA துண்டுபகுதிகள் எண்டோநியூக்ளியேஸ் நொதியால் வெட்டி நீக்கப்படுகின்றன. எக்ஸோநியூக்ளியேஸ் நொதி பெறுபவர் பாக்டீரியாவின் மாற்றத்தில் ஈடுபடாத, மற்றொரு இழை DNAவை அழிக்கிறது. இரு DNAக்களுக்கும் இடையே இருக்கும் சிறு இடைவெளி லிகேஸ் நொதியால் நன்கு ஒட்டப்படுகின்றன. பின்னர் மாற்றமடைந்த ஒவ்வாத ஈரிழைகள் இரட்டித்தலில் ஈடுபடுகின்றன. இதனால் ஒரு சாதாரண ஈரிழையும் மற்றொரு மாற்றமடைந்த

ஈரிழையும் கிடைக்கின்றன. மாற்றமடைந்த ஈரிழைகளிலிருந்து குளோன் செய்யப்படுபவை மாற்றமடைந்த பாக்டீரியாவாகவும், சாதாரண ஈரிழையிலிருந்து வளர்க்கப்படுபவை மாற்றமடையாத குளோனாகவும் இருக்கும் (படம்12.5.12.5A).

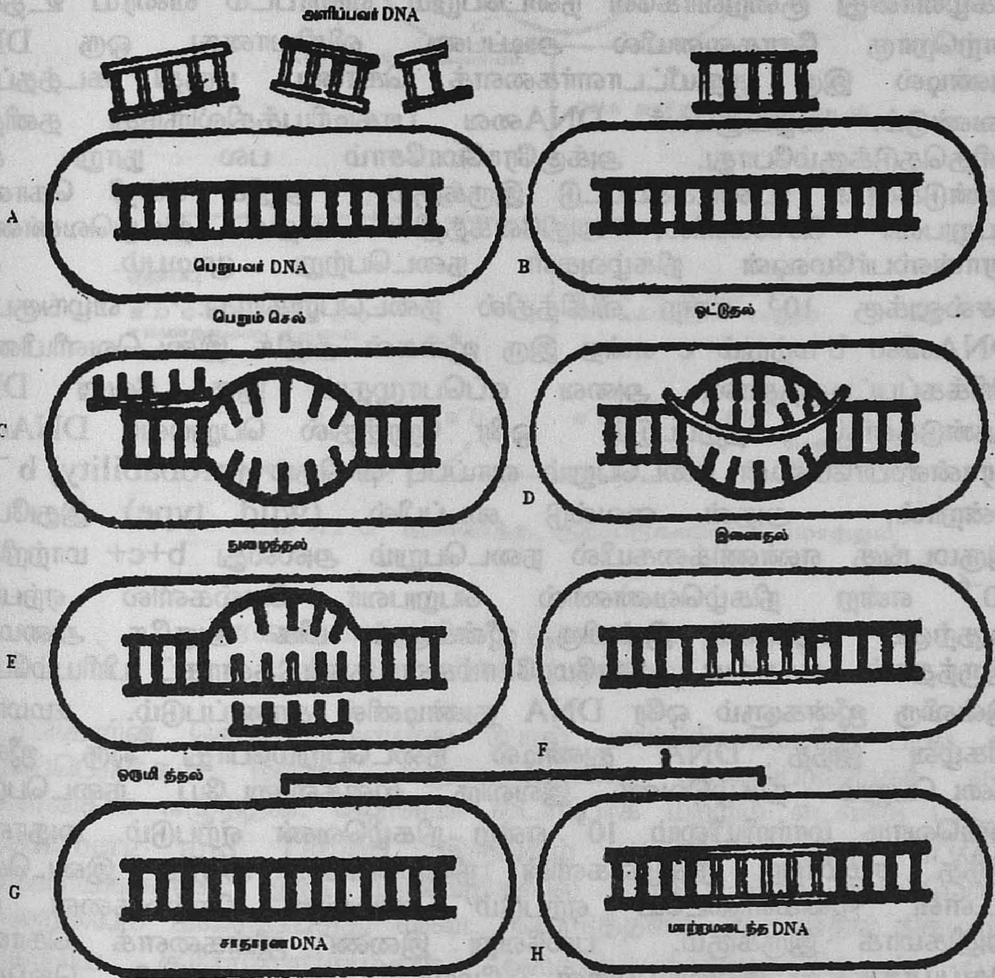


படம் 12.5. பாக்டீரியாவில் மாற்றத்தின் மூலக்கூறு நிகழ்வுகள்

மாற்றம் மூலம் குரோமோசோம் வரைபடம் தயாரித்தல்

பாக்டீரியா ஜீன்களின் பிணைப்பினைக் கண்டறிய டிரான்ஸ்பர்மேஷன் தகவல்களை உபயோகப்படுத்தலாம். பாக்டீரிய குரோமோசோம்களை பிரித்தெடுக்கும்போது, அவை சிறு துண்டுகளாக உடையும். இதில் இரு வழங்குபவர் ஜீன்கள் மிக அருகாமையில் அமைந்திருந்தால் அது இரண்டும் ஒரே DNA துண்டின் மூலம், மாற்றமடையும் DNAவை அடையும். இது இரட்டை (double transformation) **டிரான்ஸ்பர்மேஷன்** அல்லது **சமமாற்றம்** (co transformation) என்று அழைக்கப்படும். வேறுவிதமாக, இரு ஜீன்களும் அதிக இடைவெளியில் அமைந்திருந்தால், அவை வெவ்வேறு துண்டுகளில் எடுத்துச் செல்லப்பட்டு இரு வேறு டிரான்ஸ்பர்மேஷன்களை தனித்தனியே ஏற்படுத்தும். இதன்மூலம் அருகருகே பிணைந்திருக்கும் ஜீன்கள் விபரம் சேகரிக்கப்பட்டு அவ்வுயிரிலுள்ள குரோமோசோம் வரைபடம் தயாரிக்கப்படும். ஒன்றாக பிணைந்திருக்கும் ஜீன்கள் ஒன்றாகவே மாற்றப்படுவதால், ஒற்றை மாற்றங்களை விட இரட்டை மாற்றங்கள் அதிகமாக நேர்கின்றன. ஆனால் வரைபடம் தயாரிப்பில் தேவைப்படும் அனைத்து விபரங்களும் பல காரணிகளால் கடினமாக்கப்படுகின்றன. ஒரு பாக்டீரியாக்கள் கூட்டத்தில் காணப்படும்

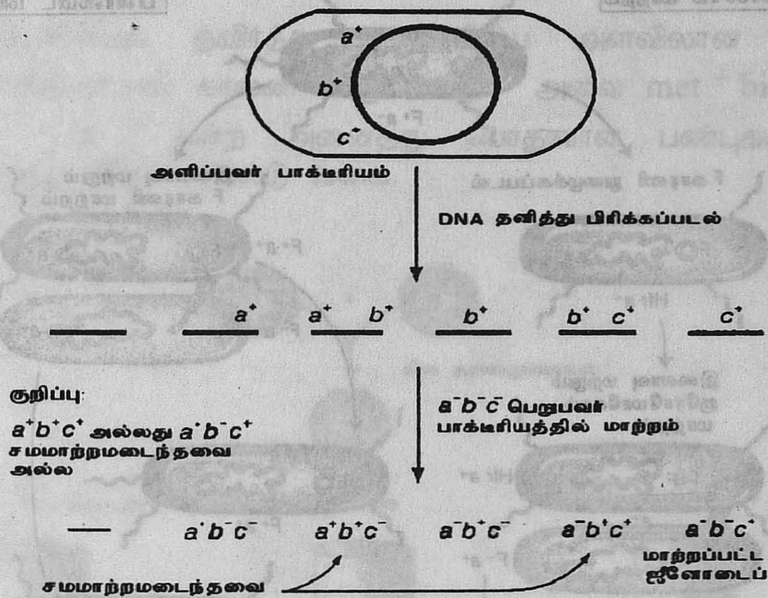
அனைத்து செல்களும், மாற்றம் ஏற்படுத்தும் தகுதி வாய்ந்தவையாக இருக்காது.



படம் 12.5A ஜீன்மாற்றத்தில் மூலக்கூறு நிகழ்வுகள்

சில இனங்களில் ஜீன் டிரான்ஸ்பர்மேஷன் தொழில்நுட்பம் மட்டுமே ஜீன் வரைபடம் தயாரிக்க உதவுகிறது. இங்கு இருவேறு ஜீன் குறியீட்டாளர்களுக்கிடையே நடைபெறும் டிரான்ஸ்பர்மேஷன் அலைவரிசையைக் கணக்கீடுசெய்து ஜீன்களின் வரைபடம் தயாரிக்கப்படும். டிரான்ஸ்பர்மேஷனில் சில தாக்கங்கள் நிகழ்வெண் கண்டறிதலை சிரமப்படுத்தும். டிரான்ஸ்பர்மேஷனின் நிகழ்வெண், வழங்குபவர் DNA பெறுபவர் DNAவில் நுழையும் முன்னர் தனது நிலையை மீண்டும் அடையும் நிலை, மற்றும் வழங்குபவர் DNAவின்

மூலக்கூறு எடை அகியவற்றைப் பொறுத்தே அமையும். சரியாகப் பொருந்தாத DNA இழைகளுக்கிடையேயும் டிரான்ஸ்பர்மேஷன் நிகழ்வானது குறைவாகவே நடைபெறும். வரைபடம் வரைய உதவும் மாற்றொரு சோதனையில் அடிப்படை விதியானது, ஒரு DNA துண்டில் இரு குறியீட்டாளர்களைக் கொண்ட பகுதி கடத்தப்பட வேண்டும். வழங்குபவர் DNAவை பாக்டீரியத்திலிருந்து தனித்து பிரித்தெடுக்கும்போது, அக்குரோமோசோம் பல நூறு சிறு துண்டுகளாக உடைக்கப்பட்டு இருக்கும். அதிக சக்தி கொண்ட பெறுபவர் செல்களில், அதிவேகத்தில் அதிக நிகழ்வெண்ணில் டிரான்ஸ்பர்மேஷன் நிகழ்வுகள் நடைபெற்று முடியும். ஒரு செல்லுக்கு 10^3 என்ற விகித்தில் நடைபெறுகிறது. வழங்குபவர் DNAவில் b மற்றும் c என்ற இரு ஜீன்கள் அதிக இடைவெளியினால் பிரிக்கப்பட்டிருந்தால், அவை எப்பொழுதும் இரு வேறு DNA துண்டுகளில் கடத்தப்படும். ஒரே நேரத்தில் பெறுபவர் DNAவில் டிரான்ஸ்பர்மேஷன் நடைபெறும் வாய்ப்பு விகிதம் (probability) $b^- c^-$ என்றால், அதன் வைல்டு டைப்பில் (wild type) இதுபோல் இருமடங்கு எண்ணிக்கையில் நடைபெறும் அல்லது b+c+ மாற்றிகள் 10^{-6} என்ற நிகழ்வெண்ணில் பெறுபவர் செல்களில் ஏற்படும். அதற்குப் பதிலாக, இவ்விரு ஜீன்களும் மிக அருகே அமைந்து இருந்தால் பாக்டீரிய குரோமோசோம்கள் துண்டுகளாகப் பிரியும்போது இவ்விரு ஜீன்களும் ஒரே DNA துண்டினில் காணப்படும். சமமாற்ற நிகழ்வு இந்த DNA துண்டில் நடைபெறும்போது ஒரு ஜீனில் நடைபெறும் நிகழ்வெண் இவ்விரு ஜீன்களிடையே நடைபெறும். ஒவ்வொரு மாற்றியிலும் 10^3 என்ற நிகழ்வெண் ஏற்படும். அதாவது, இந்த சமமாற்ற நிகழ்வுகளின் நிகழ்வெண், அதிக இடைவெளி உள்ள ஜீன்களிடையே ஏற்படும் சமமாற்ற நிகழ்வுகளை விட அதிகமாக இருக்கும். பல்வேறு இணை ஜீன்களைக் கொண்டு செய்யப்பட்ட இவ்வாய்வுகள் மேற்கூறியதை உறுதி செய்தன. உதாரணமாக b மற்றும் c ஜீன்கள், c மற்றும் a ஜீன்களின் சமமாற்ற நிகழ்வில் a மற்றும் b ஜீன்கள் ஒன்றாக மாற்றமடையாது. அல்லது வெகு குறைந்த நிகழ்வெண்ணைத் தாண்டாது. இங்கு ஜீன்கள் bca என்ற வரிசையில் அமைந்திருக்கும் (படம் 12.6.).



படம் 12.6. இணைந்த குறியீடுகளின் சமமாற்றம்

பாக்டீரியாக்களில் இணைதல் நிகழ்வு (Bacterial Conjugation)

உயிரிகளின் செல்களிலுள்ளது போல், பாக்டீரியங்களில் பால் வழி இனப்பெருக்கம் மற்றும் மறு இணைவு காணப்படுகிறதா என்ற கேள்விகள் எழுந்தன. ஜோசுவா லீடர்பெர்க் மற்றும் எட்வர்டு டாட்டம் (Lederberg and Tatum) இருவரும் 1946ம் ஆண்டு எ.கோலி பாக்டீரியங்களில் இரு இனவழிகளில் பால் வழி இனப்பெருக்க முறையைக் கண்டுபிடித்து விடை கொடுத்தனர். இணைதல் நிகழ்வில், பாக்டீரிய குரோமோசோம்கள் அல்லது f-பிளாஸ்மிட்கள் (பால் காரணிகள்) ஒரு செல்லிலிருந்து மற்றொரு செல்லுக்கு இணைதல் முறையில் மாற்றப்படுகின்றன. இணைவு முறையில் அளிப்பவர் DNAவின் ஒரு பகுதி பெறுபவர் பாக்டீரியாவினுள் நுழைகிறது. அங்கு இரு குரோமோசோம்களுக்கு இடையே மறுஇணைவு நிகழ்ந்து அதன்பின் உண்டாகும் இரு செல்களும் அளிப்பவர் மற்றும் பெறுபவர் ஆகிய இரு பாக்டீரியாக்களின் பண்புகளையும் பெற்றிருக்கும் (படம் 12.7.).

குரோமோசோம் மாற்றம்

பிளாஸ்மிட் மாற்றம்

$F^+ a^+$

F காரணி நுழைக்கப்படல்

$Hfr\ a^+$

இணைவு மற்றும் குரோமோசோம் மாற்றம்

$Hfr\ a^+$

$F^- a^-$

$F^- a^+/a^-$

மறுஇணைவு

மறுஇணைவு இல்லை

$F^- a^+$ $F^- a$

இணைவு மற்றும் F காரணி மாற்றம்

$F^+ a^+$

$F^- a^-$

$F^+ a^+$

$F^+ a^-$

படம் 12.7. பாக்டீரியத்தில் இணைவு

லீடர்பெர்க் மற்றும் டாட்டம் சோதனை

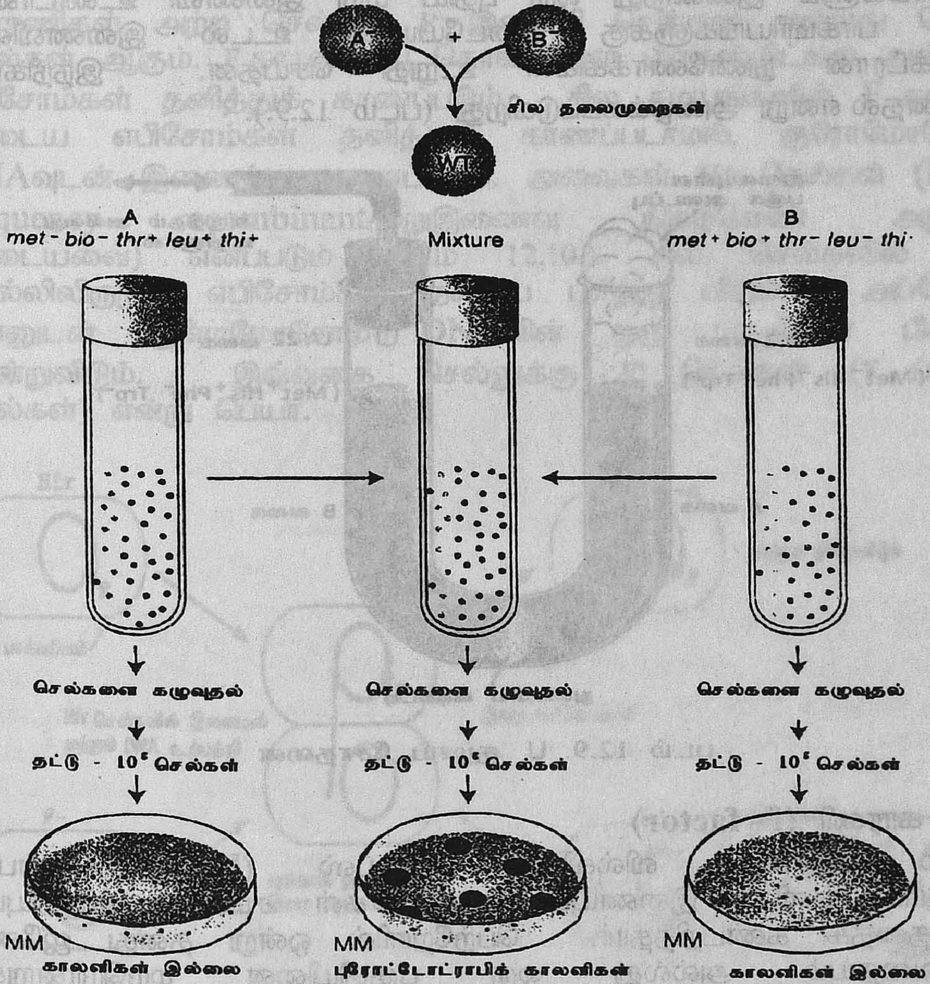
எ.கோலியின் இருவேறு ஆக்ஸோட்ரோபிக் திடீர்மாற்ற இனவழிகள் A மற்றும் B. A இனவழியானது மிதியோனின் மற்றும் பயாட்டின் உணவு துணை அலகுகள் கொண்ட ஊடகத்தில் மட்டும்தான் வளரும். B இனவழியானது திரியோனின், லியூசின் மற்றும் தைமின் உணவு துணை அலகுகள் உள்ள ஊடகத்தில் வளரும் தன்மையுடையவை. இதை இவ்வாறு குறிப்பிடுவார்கள்.

இனம் A: met^- bio^- thr^+ leu^+ thi^+

இனம் B: met^+ bio^+ thr^- leu^- thi^-

இனவழி Aயானது, **உணவு துணையலகுகள் அற்ற** (minimal medium) **ஊடகத்தில்** வளரும்போது காலனிகள் ஏதும் தோன்றவில்லை (படம் 12.8.). இனவழி B மாதிரிகளை அதேபோல் பொது ஊடகத்தில் வளர்க்கும்போது காலனிகள் ஏதும் உருவாகவில்லை. இரு இனவழிகளையும் ஒன்றாகக் கலந்து, ஒரு சிலநிமிடங்கள் குறிப்பிட்ட வெப்பநிலையில் வைத்து, அதே பொதுவான ஊடகத்தில் வளர்த்த பொழுது இந்த

இருஇனவழிகளையும் தவிர்த்து ஒரு சிறிய அளவிலான (10^7ல் ஒன்று) புரோட்டோட்ராப் காலனி உருவானது. அவை met^+ bio^+ thr^+ leu^+ thi^+ என்ற அனைத்து பொதுவான பண்புகளையும் கொண்டிருந்தது. இது வைல்டு வகை.

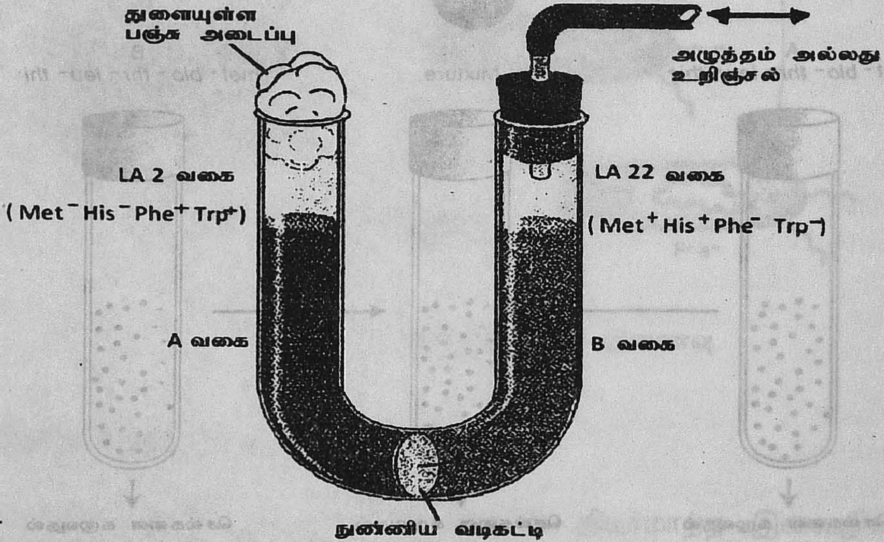


படம் 12.8. லீடர்பர்க் மற்றும் டாட்டம் சோதனை

தனித்த இனவழி மாதிரிகள், உணவுத் துணையலகுகள் அற்ற ஊடகத்தில் வளர முடியாமல் அழிந்தன. ஆனால் இரு இன வழிகளையும் கலந்து, அதே ஊடகத்தில் வளர்த்தபோது ஒரு திருப்பம் நடந்தது. ஏதோ ஒரு செல்லில் மறு இணைவு நடந்திருப்பதையும், அது நடந்த அந்த ஒரு பாக்டீரியத்தில் அனைத்து வகையான துணையலகுகளையும் உற்பத்தி செய்யும் தன்மை தோன்றியதையும், அவை வளர் ஊடகத்தில் தொடர்ந்து

வளர்ந்து இணைப்பு என்ற புதிய கோட்பாட்டினை விளக்கியதையும் உலகிற்கு உணர்த்தினர்.

பெர்னார்டு டேவிஸ் (Davies) ஒரு 'U' குழாய் சோதனையில் பாக்டீரியங்கள் இணையாமல் வெறும் உணவு ஊடகங்கள் கலப்பதினால் மறு இணைவு இனவழி தோன்ற முடியாததைக் கண்டறிந்தார். இரு இனவழிகளுக்கும் இடையே ஏற்படும் உறவு மூலமாகவே வைல்டு வகை பாக்டீரியாக்கள் தோன்றுகின்றன. இரு ஜீனோம்களும் இணைந்து ஒரு புதிய மறு இணைவி உண்டானது. இந்த பாக்டீரியங்களுக்கு இடையேயான உடல் இணைவினை எலெக்ட்ரான் நுண்ணோக்கிகள் உறுதி செய்தன. இந்நிகழ்வு இணைதல் என்று அழைக்கப்படுகிறது (படம் 12.9.).

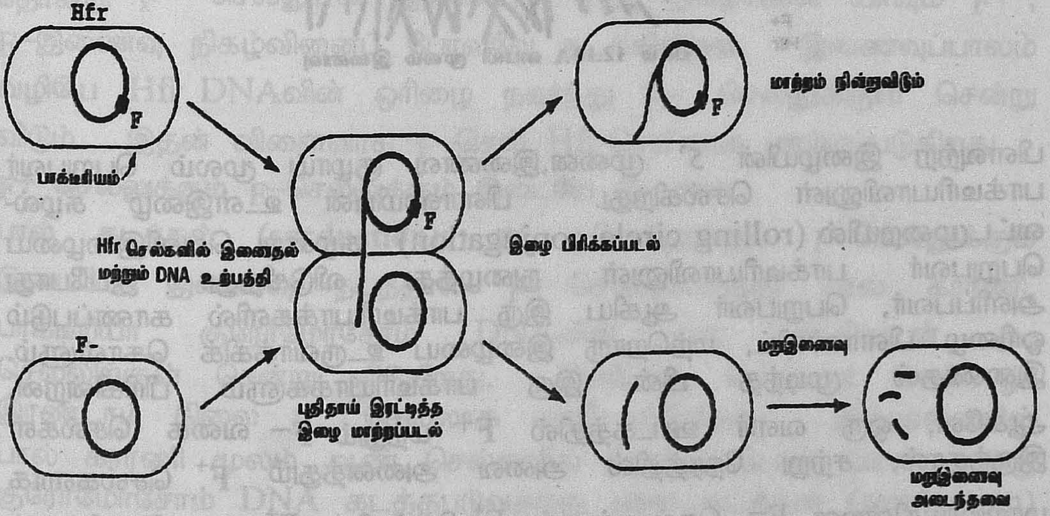


படம் 12.9. U குழாய் சோதனை

பால் காரணி (f - factor)

1953ம் ஆண்டில் வில்லியம் ஹேய்ஸ் (Hayes) என்பவர் பாக்டீரியாக்களில், இணையும் பெற்றோர்கள் சமமான தகுதியுடன் இருந்ததைக் கண்டறிந்தார். பெற்றோரில் ஒன்று தனது ஜீனோம் முழுவதையும் அல்லது ஒரு பகுதியினை மற்றொன்றுக்கு மாற்றுகிறது. இரு செல்களில் ஒன்று வழங்குபவராகவும் மற்றொன்று பெறுபவராகவும் செயல்படுகின்றன. இது யூகேரியோட்டுகளில் நடைபெறுவதைக் காட்டிலும் வித்தியாசமானது. ஏனெனில், யூகேரியோட்டுகளில் இரு பெற்றோர்களும் சமமான நியூக்ளியஸ் பொருட்களை பங்களிப்பார்கள். ஹேய்ஸ், F காரணிகளைப் பற்றி கண்டறிந்தது ஒரு விபத்து போன்றது. அவர் ஒரு மாறுபட்ட பாக்டீரிய இனவழியினை கண்டறிந்தார். அவை மறு இணைவிகளை

குறுக்கெதிர் மாற்றம் வழியாக உற்பத்தி செய்யாது. அந்த பாக்டீரியாக்களில், அளிப்பவர் வகையினை பெறுபவர் வகையுடன் சேர்த்து செய்த சோதனையில் மறுஇணைவு திறனற்ற பாக்டீரிய இனவழியானது மறு இணைவு திறனுள்ள இனவழியாக மாறியது. இது எதனால் எப்போது நடந்தது என்று ஆராயும்போது, இந்த மறுஇணைவு சக்தி வழங்குபவர் செல்களிலிருந்து (Fகாரணியாக) பால்காரணிகள் தந்தது என்பது தெரிந்தது. F காரணி கொண்டிருக்கும் செல்கள் **F+ செல்கள்** அல்லது ஆண்செல்கள் என்று அழைக்கப்படும். Fகாரணிகள் அற்ற செல்கள் **F⁻ இனவழி செல்கள்** அல்லது பெண் செல்கள் ஆகும். F காரணியை கொண்டுள்ள பிளாஸ்மிட்கள் அல்லது எபிசோம்கள் தனித்துக் காணப்படும். சில சமயங்களில் F காரணி உடைய எபிசோம்கள் தனித்துக் காணப்படாமல், குரோமோசோம் DNAவுடன் இணைந்து காணப்படும். அவைகள் **Hfr செல்கள்** (High frequency recombinant-மறுஇணைவு நிகழ்வெண் அதிகம் உடையவை) எனப்படும் (படம் 12.10.). சில செல்களில் **Hfr** செல்லிலிருந்து எபிசோம்கள் தனியே பிரிந்து விடும். அப்போது தன்னுடன் குரோமோசோம் DNAவின் ஒரு பகுதியை பிரித்து சென்றுவிடும். இவ்வகை செல்லுக்கு **F' செல்கள்** (F ப்ரைம் செல்கள்) என்று பெயர்.

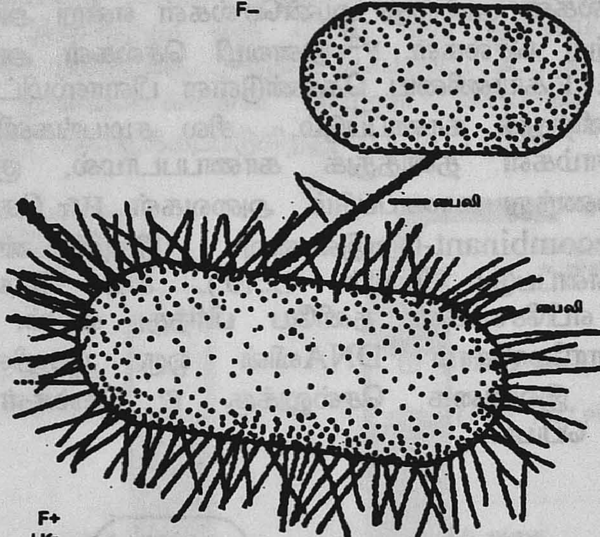


படம் 12.10. Hfr மற்றும் F⁻ பாக்டீரியங்களுக்கிடையே இணைவு

F^+ மற்றும் F^- செல்களுக்கிடையே இணைவு

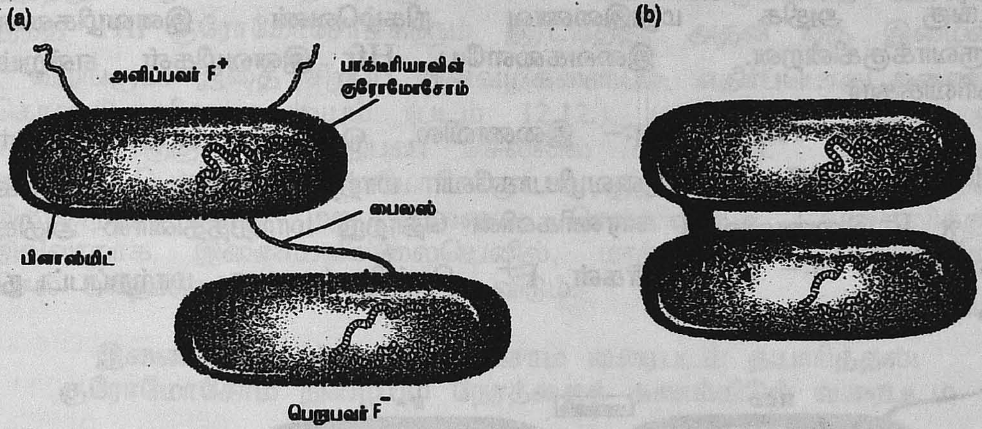
F⁻ பிளாஸ்மிடுகளின் முக்கிய பணியானது பால் பைலி (pili) எனப்படும் செல் நீட்சிகளை உற்பத்தி செய்து, பெறுபவர் செல்லை

அருகாமையில் கொணர்ந்து அதனுடன் இணைக்கிறது (படம் 12.10 A.). இணைவுக் குழாயில் (conjugation tube) இரு பாக்டீரியாக்களின் புரோட்டோபிளாசமும் காணப்படும். அளிப்பவர் செல் பிளாஸ்மிடில் ஒரு பிளவு ஏற்படுகிறது.



படம் 12.10 A பைலி மூலம் இணைவு

பிளவுற்ற இழையின் 5' முனை,இணைவு குழாய் மூலம் பெறுபவர் பாக்டீரியாவினுள் செல்கிறது. பிளாஸ்மிடின் உள்இழை சுழல்-வட்டமுறையில் (rolling circle conjugation) சுழன்று வெளிஇழையை பெறுபவர் பாக்டீரியாவினுள் நுழைத்து விடுகிறது. இப்போது அளிப்பவர், பெறுபவர் ஆகிய இரு பாக்டீரியாக்களில் காணப்படும் ஓரிழை பிளாஸ்மிட், மற்றொரு இழையை உருவாக்கிக் கொள்ளும். இணைதல் முடிந்த பின் இரு பாக்டீரியாக்களும் பிரிகின்றன. ஆகவே, ஒரு வளர் ஊடகத்தில் F^+ மற்றும் F^- வகை செல்கள் இருந்தால், சற்று நேரத்தில் அவை அனைத்தும் F^+ செல்களாக மாறிவிடுகின்றன. F^- செல்லுக்குள் F^+ செல்லின் F^+ காரணி ஜீன்கள் நுழைகின்றன. F^+ மற்றும் F^- மறு இணைவு எல்லா பாக்டீரியத்திலும் காணப்படாது. இது ஒரு அரிதான நிகழ்வாகும் (படம் 12.11.).



படம் 12.11. F^+ மற்றும் F^- பாக்டீரியாக்களிடையே இணைவு

Hfr செல்லுக்கும் F^- செல்லுக்கும் இடையே இணைவு

Hfr செல்லுக்கும் F^- செல்லுக்கும் இடையே இணைவு நிகழ்வில் Hfr செல் அளிப்பவராக செயல்படும். இதிலிருந்து இணைவுப்பாலம் தோன்றி F^- செல்லுடன் இணையும். மற்ற நிகழ்வுகள் யாவும் F^+, F^- இணைவு நிகழ்வினைப் போலவே நடக்கின்றன. இணைவுப்பாலம் வழியே Hfr DNAவின் ஒரிழை நகர்ந்து F^- செல்லுக்குள் சென்று விடும். இதன் விளைவாக F^- செல் Hfr செல்லாக மாற்றப்படுகிறது.

F^+ செல்லுக்கும் F^- செல்லுக்கும் இடையே இணைவு

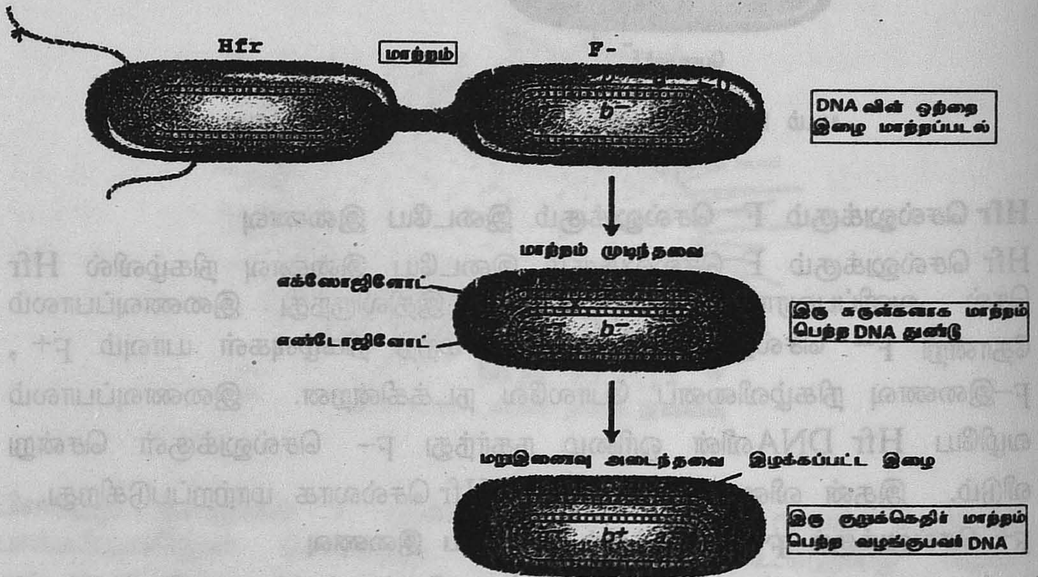
பால் கடத்தல் (sexduction): F' செல்லுக்கும் F^- செல்லுக்கும் இடையே இணைவு நடந்தால் F' செல்லிலிருந்து பால் காரணி, பாக்டீரியா குரோமோசோம் DNAவின் ஒரு பகுதியுடன் F^- செல்லிற்குள் சென்று விடுகிறது. இப்போது பெறுபவர் செல் ஓர் இரண்டாம் நிலை F' செல்லாக மாறி விடுகிறது. இம்முறையில் பால் காரணி மூலம் ஆண் செல்களில் இருந்து பெண் செல்களுக்கு குரோமோசோம் DNA கடத்தபடுவதற்கு பால் கடத்தல் (sexduction) என்று பெயர்.

Hfr இனவழிகள்

காவாலி ஸ்ப்ரோஸ் (Kavali Sprouse) என்பவர் F^+ இனவழிகளின் இரு முக்கிய பண்புகளைக் கண்டறிந்தார்.

i) ஒரு F^- இனவழியுடன் இணையும் F^+ இனம், புதிதாக 1000 மடங்கு அதிக மறுஇணைவு நிகழ்வெண் இனவழிகளை உருவாக்குகின்றன. இவைகளையே Hfr இனவழிகள் என்றும் தெரிவித்தார்.

ii) ஒரு Hfr x F^- இணைவில், ஒரு F^- பெற்றோர் F^+ பெற்றோராகவோ, Hfr இனவழியாகவோ மாற்றப்படவில்லை. மாறாக F^+ x F^-இணைவில் F காரணிகளின் தொற்று மாற்றத்தினால் அதிக அளவிலான F^- பெற்றோர்கள் F^+ பெற்றோர்களாக மாற்றப்பட்டது தெரிந்தது.



படம் 12.12. பாக்டீரியா இணைவும், மறுஇணைவும்

முதல் நிகழ்ச்சியில் இணைதல் குழாய் தோன்றியவுடன், Fகாரணி முழுமையான, முக்கிய குரோமோசோமுடனோ அல்லது தனித்தோ F^- செல்லினுள் நுழைந்து விடுகிறது. இந்த குரோமோசோம், பெறுபவர் குரோமோசோமுடன் இணைந்து மறுஇணைவு நிகழ்வினில் ஈடுபடுகிறது. F^- x F^+ இணைவு தன்னிச்சையாக நடந்து, அரிதான Hfr செல்களை F^+ வளர்ப்பில் தோற்றுவித்தது. இவைகளை தனித்துப் பிரித்தெடுத்து புதிய Hfr சகாப்தம் தோற்றுவித்தது காவாலி-ஸ்ப்ரோஸ் ஆவார். Hfr செல்கள் அதன் குரோமோசோம் பொருட்களை F^- செல்லிற்கு வழங்கியவுடன்

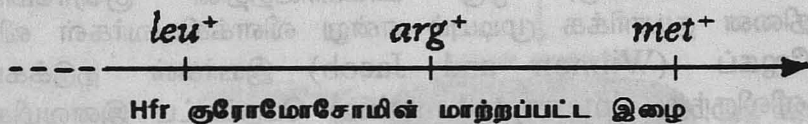
இறந்து விடுமா என்றால் இல்லை. F^- பிளாஸ்மிடுகளைப் போலவே, இந்த Hfr குரோமோசோம்களும் இரட்டித்து, அதன் ஒரு இழையை F^-வழங்கும். இதை சிறப்பு இனவழிகளையும், எதிர்ப்பொருட்களையும் கொண்டு விளக்கமுடியும் (படம் 12.12.). மாற்றப்பட்ட இழை ஒரு ஈரிழை திருகுவாக பெறுபவர் செல்லில் மாறுகிறது. வழங்கப்பட்ட ஜீன்கள் பெறுபவர் குரோமோசோமுடன் குறுக்கெதிர் மாற்றம் மூலம் இணைந்து புதிய மறு இணைவு செல்லினைத் தோற்றுவிக்கும். இவ்வாறாக இணையவில்லையெனில், மாற்றப்பட்ட குரோமோசோம் செல் பிரிதலின் போது மறைந்து விடும்.

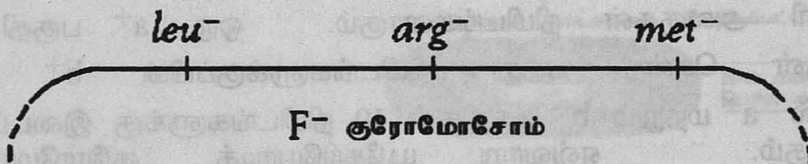
இணைவு மூலம் குரோமோசோம் வரைபடம் தயாரித்தல்: குரோமோசோம் நுழையும் நேரத்தைக் கணக்கிடும் வரைபடம்

பாக்டீரியாவினுள் குரோமோசோம் நுழையும் நேரத்தைக் கணக்கிடும் வரைபடம் விரிந்த அலகு வரைபடம் ஆகும். இணைதல் முடிவுகளைக் கொண்டு, ஒரு பாக்டீரியத்தின் குரோமோசோம் வரைபடத்தினை தயாரிக்க முடியும் என்று விளக்கியவர்கள் வில்மன் மற்றும் ஜேகப் (Wilmon and Jacob) இவர்கள் தடுக்கப்பட்ட இணைவுகளிலிருந்து (interrupted mating) பெறப்பட்ட இனவழிகளில், மாற்றப்பட்ட குரோமோசோம் அளவுகளை (நீளங்கள்) பல்வேறு சோதனை முடிவுகளில், பலவிதமான கால அளவு இடைவெளிகளில் கணக்கிட்டு கண்டறிந்தனர். இங்கு குரோமோசோம் வரைபட இடைவெளி அலகுகள் நிமிடங்களாகும். ஒரு a^+ பகுதி F^- செல்லிற்குள் சென்ற பத்து நிமிடங்களுக்குப்பின் b^+ பகுதி நுழைந்தால் a^+ மற்றும் b^+ பகுதிகள் 10 நிமிடங்களுக்கு இடைப்பட்ட பகுதிகளாகும். எவ்வாறு யூகேரியோடிக் குரோமோசோம் வரைபடங்கள் குறுக்கெதிர் மாற்ற அலகுகளைக் கொண்டுள்ளதோ, அவ்வாறே இந்த இணைவு வரைபடங்களும் ஜீன்களின் அடிப்படையில்தான் மேற்கொள்ளப்படுகின்றன.

மறு இணைவு நிகழ்வெண் கணக்கிடும் குரோமோசோம் வரைபடம்
புரோகேரியோட் செல்களில், யூகேரியோட்டுகளில் நடைபெறுவதுபோல், மறு இணைதல் இரு முழுமையான குரோமோசோம்கள் இடையே நடைபெறாது. மாறாக, F^- செல்லின் முழுமையான ஜீனோமுக்கும் **(எண்டோஜினோட்)**,Hfr செல்களிலிருந்து பெறப்பட்ட ஒரு முழுமையற்ற பகுதிக்கும் **(எக்ஸோஜினோட்)** இடையே மறு இணைதல் நிகழ்வு நடைபெறும். மறு இணைவு நடைபெறும் செல்லில் DNA வின் ஒரு நகல் எண்டோஜினோட்டில் இருந்தும் மற்றொரு நகல் எக்ஸோஜினோட்டில் இருந்தும் வந்ததாக இருக்கும். இந்நிலையில் பாக்டீரியாக்கள் டிப்ளாய்டு நிலையை

ஒத்திருப்பதால் **மீரோசைகோட்டுகள்** (merozygotes) என்று அழைக்கப்படுகின்றன. பாக்டீரிய மரபியிலை **மீரோசைகோட் மரபியல்** என்றும் அழைப்பர். மீரோசைகோட்டில் நடைபெறும் ஒரு குறுத்கெதிர் மாற்றித்தினால் செயல்படக்கூடிய மறு இணைவியை உருவாக்க முடியாது. ஆனால், பாக்டீரிய குரோமோசோம்கள் இணையும்போது அதிகபட்ச எண்ணிக்கையில் மறு இணைவு நிகழ்வுகள் நடந்து முழுமையான வட்டவடிவ, செயல்படக்கூடிய மறு இணைவு குரோமோசோம் உருவாகின்றது. இந்த புரிதலின் அடிப்படையில் வரைபட தூரத்தைக் கணக்கிட முடியும். உதாரணமாக met, arg மற்றும் leu எனும் 3 ஜீன் புள்ளிகளின் தூரத்தைக் கணக்கிடும்போது, met ஜீன் முதலிலும், leu ஜீன் கடைசியிலும் மாற்றப்படுகிறது. தடைபடுத்தப்பட்ட இணைதல் மூலம், மூன்று ஜீன்களுக்கான குறிப்பிட்டாளர்களை பயன்படுத்தி வரைபட தூரத்தைக் கணக்கிடலாம் (படம் 12.13.).

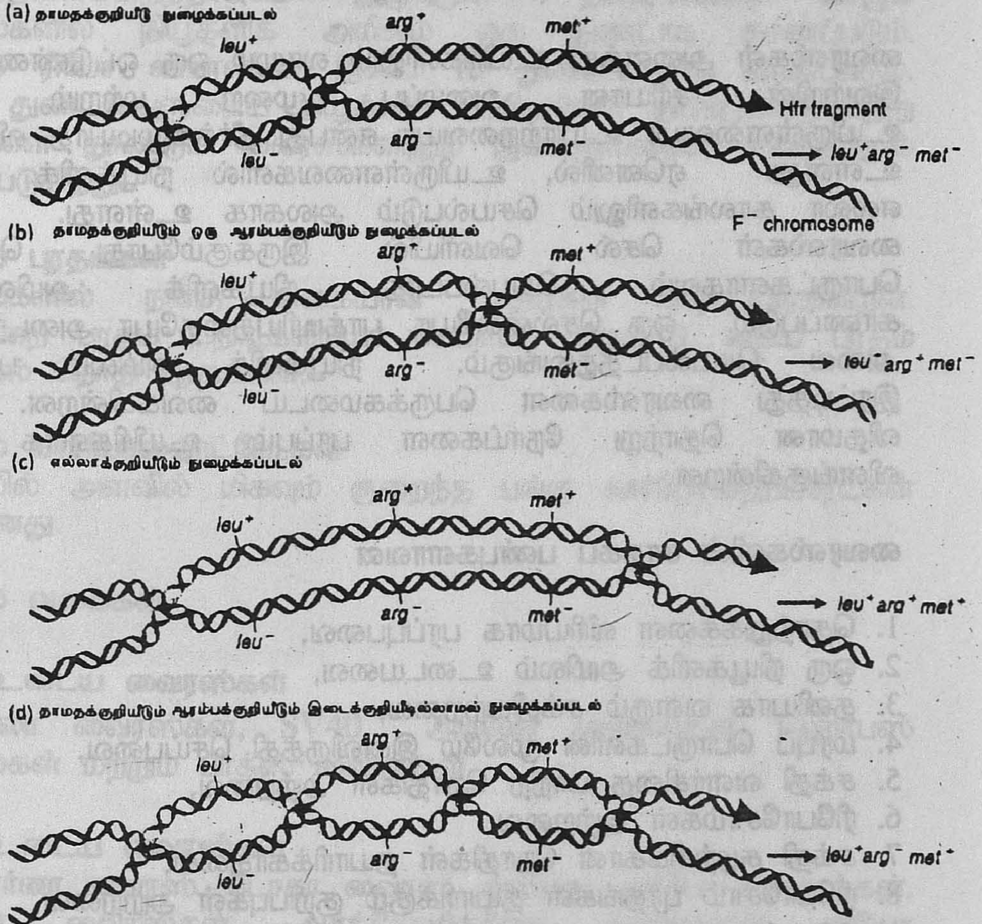




படம் 12.13. மறுஇணைவு நிகழ்வெண் கணக்கிடும் குரோமோசோம் வரைபடம்

Hfr : met $^{+}$ arg $^{+}$ leu $^{+}$ str ^{s} x **F⁻ :** met $^{-}$ arg $^{-}$ leu $^{-}$ str^{r} கலப்பின்போது, leu^{+} குறியீட்டாளர் மூலம் arg- met- அல்லீல்களை சோதனை செய்யலாம். leu^{+} ஒரு தனித்த மறு இணைவி என்பது அறியப்படும். இங்கு ஏற்பட்ட மறு இணைவு நிகழ்வெண் 4% மற்றும் குரோமோசோம் ஜீன்களின் அமைப்பு leu $^{+}$ arg $^{-}$ met $^{-}$ ஆகும். இரு குறுத்கெதிர் மாற்றங்கள் நடந்திருந்தால், அங்கு குரோமோசோமின் ஜீன்கள் அமைப்பானது leu $^{+}$ arg $^{+}$ met $^{-}$, மறு இணைவு நிகழ்வெண்

9% ஆகும். மூன்று ஜீன்களிலும் மறு இணைவு நிகழ்ந்தபோது 8.7% மறு இணைவு நிகழ்வெண்ணும் leu^+ arg^+ met^+ என்று குரோமோசோம் ஜீன்களில் வரிசையும் மாறிவிடும் (படம் 12.14.).



படம் 12.14. மறுஇணைவு மூலம் வரைபடம் தயாரித்தல்

leu^+ குறியீட்டாளர் இணைவின் முடிவில் தோன்றும் இன வழிகளும், மறு இணைவு நிகழ்வெண்களும்

தனித்த மறு இணைவு	leu^+ arg^- met^-	- 4%
இரு ஜீன்களிலும் மறு இணைவு	leu^+ arg^+ met^-	- 9%
மூன்று ஜீன்களிலும் மறு இணைவு	leu^+ arg^+ met^+	- 8.7%

முதல் இரு வகைகளும் வரைபடம் தயாரிப்பதில் பெரும் உதவி செய்கின்றன. leu மற்றும் arg பகுதிகளிடையே 4 அலகுகளும், arg மற்றும met பகுதிகளிடையே 9 அலகுகள் தூரமும் கணக்கிட்டு வரைபடம் தயாரிக்கப்படுகிறது.

பாக்டீரியோபேஜ் மரபியல்
(Bacteriophage Genetics)

வைரஸ்கள் அனைத்து உயிரிகளிலும் வாழும் ஒரு ஒட்டுண்ணியாகும். இவற்றின் சரியான அமைப்பு முறை மற்றும் அவை உயிருள்ளவையா உயிரற்றவையா என்பது தீர்க்கமுடியாத வினாவாக உள்ளது. ஏனெனில், உயிருள்ளவைகளில் நியூக்ளிக் அமிலம் எல்லா காலங்களிலும் செயல்படும் அலகாக உள்ளது. ஆனால் வைரஸ்கள் செல் வெளியில் இருக்கும்போது செயலற்ற பொருட்களாகவும், செயல்படாத நியூக்ளிக் அமிலத்துடன் காணப்படும். ஒரு செல்லையோ, பாக்டீரியத்தையோ அடைந்தவுடன் அவை செயல்படத்துவங்கும். நியூக்ளிக் அமிலம் பலமுறை இரட்டித்து வைரஸ்களை பெருக்கமடைய வைக்கின்றன. பல விதமான தொற்று நோய்களை பரப்பும் உயிரிகளாக இவை விளங்குகின்றன.

வைரஸ்களின் சாதகப் பண்புகளாவன

1. தொற்றுக்களை வீரியமாக பரப்புபவை,
2. ஒரு நியூக்ளிக் அமிலம் உடையவை,
3. தனியாக வளரும் சக்தியற்றவை,
4. மரபுப் பொருட்களின் மூலமே இனவிருத்தி செய்பவை,
5. சக்தி வளர்சிதை மாற்ற நொதிகள் அற்றவை,
6. ரிபோசோம்கள் அற்றவை,
7. சக்தி சுழற்சிக்கான நொதிக்ள் தயாரிக்காதவை,
8. ரிபோசோம் புரதங்கள் தயாரிக்கும் குறிப்புகள் அற்றவை,
9. ரிபோசோம் RNA மற்றும் கரையும் tRNA தயாரிக்கும் குறிப்புகளற்றவை,
10. கடத்திகளாக மரபுப்பொறியியலில் பயன்படுபவை.

புறத்தோற்றம்: இவை பல வடிவங்களைக் கொண்டு, பல்வேறு அளவுகளில் காணப்படுகின்றன. ஒரு தொற்றினை ஏற்படுத்தும் முழுமையான பகுதிக்கு **வைரியான்** (virion) என்று பெயர். ஒரு வைரியானில் ஒரு நியூக்ளிக் அமிலமும் அதைச் சுற்றிலும் ஒரு புரத உறையுமான 'கேப்சிட்' (capsid) காணப்படுகிறது. ஒரு முழுமையான வைரான் 'நியூக்ளியோகேப்சிட்', என்று அழைக்கப்படும்.

இவற்றின் மேலுறையில் கேப்சோமியர்கள் (capsomeres) என்ற துணை அலகுகள் காணப்படும் (படம் 12.15.).

வைரஸ் நியூக்ளிக் அமிலங்கள்: வைரஸ்கள் ஓரிழை அல்லது ஈரிழை DNA அல்லது RNA மூலக்கூறுகளை கொண்டுள்ளது. இவை நேராகவோ, வட்டவடிவிலோ, துருவத்தன்மையுடனோ அல்லது துருவத்தன்மையற்றதாகவோ இருக்கும். தாவரங்களில் வாழும் வைரஸ்களில் நியூக்ளிக் அமிலம் ஒரு துண்டாக காணப்படும். ஆனால் ரிபோ வைரஸிஸ் இவை 10 துண்டங்களாக காணப்படும். அதிக துண்டங்களுடைய நியூக்ளிக் அமிலங்கள் தாவரதண்டு புற்று செல்களை தூண்டும் வைரஸ்களிலும் இன்புளுயன்ஸா வைரஸிலும் காணப்படுகிறது.

வைரஸ் புரதங்கள்

வைரஸ்களில் நன்கு வகையான புரதங்கள் காணப்படுகின்றன. 1.மேலுறை புரதம் 2.நியூக்ளியோ கேப்ஸிட் புரதம் 3. மைய புரதம் 4.வைரஸ் நொதி புரதங்கள்.

வைரஸ் கார்போஹைட்ரேட்கள்

வைரஸில் அளவில் மிகவும் குறைந்த பங்கு கார்போஹைட்ரேட்கள் உள்ளனது.

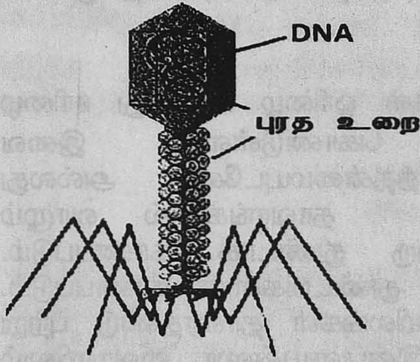
வைரஸ் வகைகள்

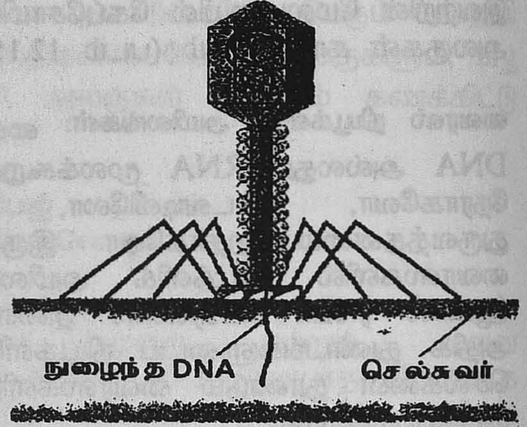
DNA உடைய வைரஸ்கள்

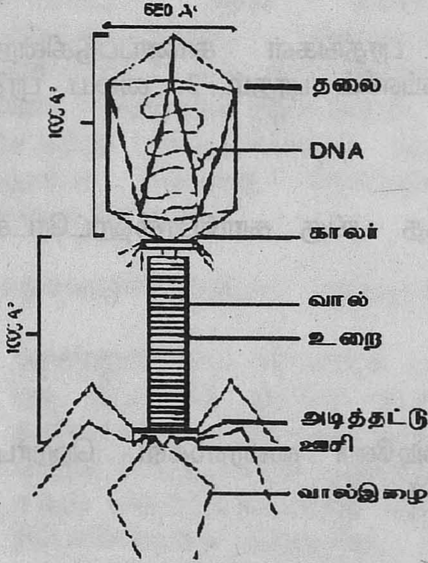
பாப்பிலோ வைரஸ்கள், SV40, அடினோ வைரஸ்கள், ஹெர்பஸ் வைரஸ்கள் மற்றும் பாக்ஸ் வைரங்கள்.

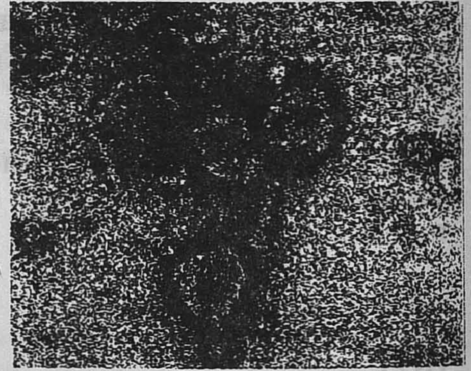
RNA உடைய வைரஸ்கள்

பிக்கோர்னா வைரஸ், டோகா வைரஸ் அல்லது ஆர்போ வைரஸ்கள், ரேப்டோ வைரஸ்கள், ஆர்த்தோமிக்ஸோ வைரஸ்கள், ரியோ வைரஸ்கள், ரிட்ரோ வைரஸ்கள்.









T_4 பேஜின் எலக்ட்ரான் மைக்ரோஸ்கோப் தோற்றம்

படம் 12.15 . T_4 பாக்டீரியோபேஜின் அமைப்பு

பாக்டீரியோபேஜ் ஜீனோம் அமைப்பு

பாக்டீரியாக்களைத் தாக்கும் வைரஸ்கள் பாக்டீரியோபேஜ்கள் எனப்படுகின்றன. லாம்டாபேஜ் (Lamda phage) ஒரு பாக்டீரியாவின் ஜீனை மற்றொரு பாக்டீரியாவிற்கு கடத்துகின்றன (படம் 12.16.).

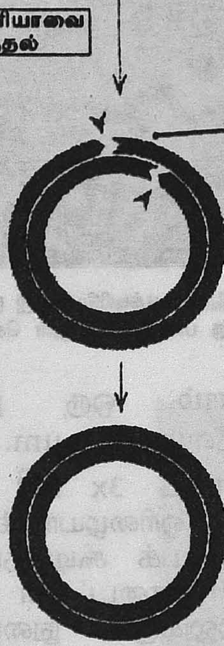


படம் 12.16. பாக்டீரியோபேஜ் DNA வை
ஒரு பாக்டீரியத்தினுள் செலுத்துதல்

பாக்டீரியோபேஜின் ஜீனோம் ஒரு நீண்ட இரட்டை இழை DNAவினால் ஆனது. நீளம் 17 μm. இதில் 48,514 பேஸ்கள் உள்ளன. மூலக்கூறு எடை 3x 10^3 டால்டன்கள். இரட்டை இழையின் முனைகள் ஓரிழையாகக் காணப்பட்டு, ஒன்று மற்றொன்றுடன் பூர்த்தி செய்யக் கூடியதாக இருக்கும். ஒவ்வொரு தனி இழையும் 12 நியூக்ளியோடைட்கள் கொண்டது. நீண்ட லாம்டா DNA விருந்தோம்பி செல்லுக்குள் நுழைந்ததுமே, அதன் ஒட்டும் முனைகள் லிகேஸ் நொதியில் இணைந்து ஒரு வட்டமான அமைப்பாய் மாறிவிடும் (படம் 12.17.).

வைரஸ் ஜீனோமில் காணப்படும் ஜீன்கள்

முக்கியமான நான்கு ஜீன் தொகுப்புகளை உடையது. தலையுறை தயாரிக்கும் ஜீன்கள், வால் பகுதி உண்டாக்கும் ஜீன்கள், இரட்டிப்படைய வைக்கும் ஜீன்கள் மற்றும் மறு இணைவு ஜீன்கள். இவை, தனித்தனி தொகுதிகளாக அமைந்துள்ளன. இதுபோக, நேர்முக ஒழுங்குபடுத்தும் ஜீன்கள், மறைமுக ஒழுங்குபடுத்தும் ஜீன்கள், DNA உற்பத்தி ஜீன்கள். அழிக்கும் ஜீன்கள் என பல்வேறு ஜீன்கள் காணப்படுகின்றன.



படம் 12.17. லாம்டா பேஜின் ஜீனோம் அமைப்பு

பாக்டீரியோபேஜ் வாழ்க்கை சுழற்சி

பாக்டீரியோபேஜ்களில் இரு வகையான வாழ்க்கை சுழற்சி முறைகள் கண்டறியப்பட்டுள்ளன. அவை,

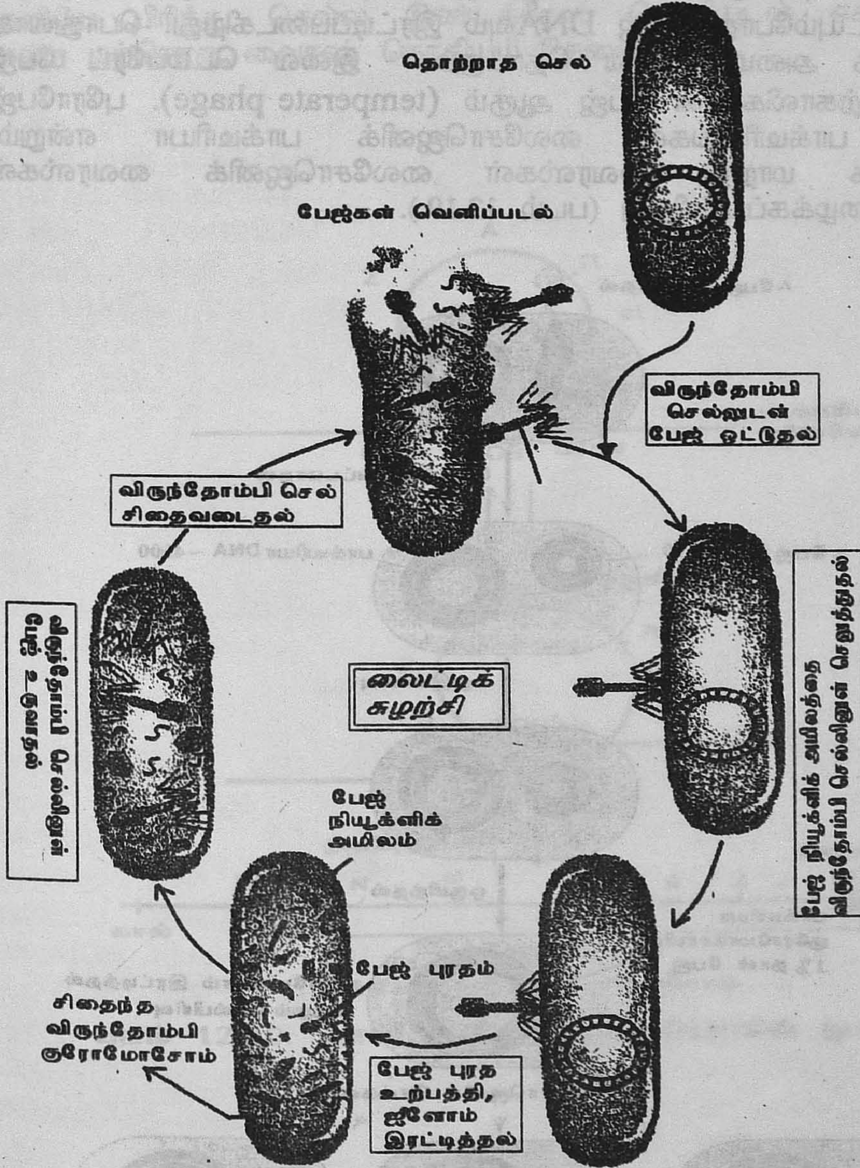
1.லைட்டிக் சுழற்சி (தீங்கு ஏற்படுத்தும் சுழற்சி),

2.லைசோஜெனிக் சுழற்சி (தீங்கு ஏற்படுத்தாத சுழற்சி) ஆகும்.

லைட்டிக் சுழற்சி (Lytic cycle)

பேஜ் வைரஸ் ஒரு விருந்தோம்பி பாக்டீரியத்தினுடன் இணைந்து, அதன் மரபணுப் பொருட்களை பாக்டீரியாவின் சைட்டோபிளாசத்தினுள் செலுத்தும். பின்னர் பேஜின் மரபணு இயந்திரம் பாக்டீரிய செல்லின் முழு பணிகளையும் தனக்கு சாதகமாக்கி, பாக்டீரியாக்கள் பேஜ் பொருட்களை தயாரிக்கும் பொறியாக மாற்றிவிடும். புதிய வைரஸ் தலையுறைகளையும்,

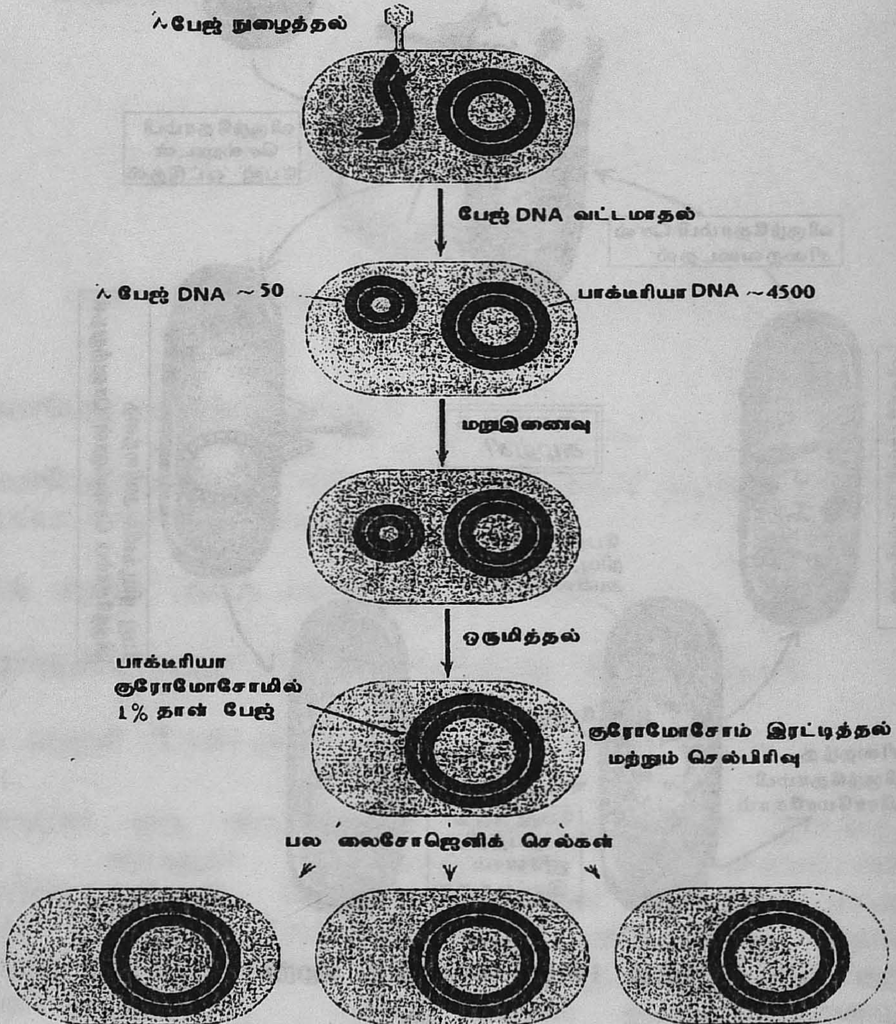
இரட்டிப்படைந்த வைரஸ் குரோமோசோம்களையும், ஒன்றிணைந்து பல நூறு பேஜ்களை உருவாக்கும். பாக்டீரியத்தின் உள் நிறைந்துவிடும் பேஜ் வைரஸ்கள், விருந்தோம்பி பாக்டீரியாக்களை கிழித்துக்கொண்டு வெளியேறும். இதையே **லைட்டிக் அல்லது தீங்கு ஏற்படுத்தும் சுழற்சி** என்பர் (படம் 12.18.). இதில் வைரஸ்கள் தலை மற்றும் வாலுடன் முழுமையான தோற்ற அமைப்பில் இருப்பதால் வைரியான்கள் (virions) என்று பெயர்.



படம் 12.18. லைட்டிக் சுழற்சி

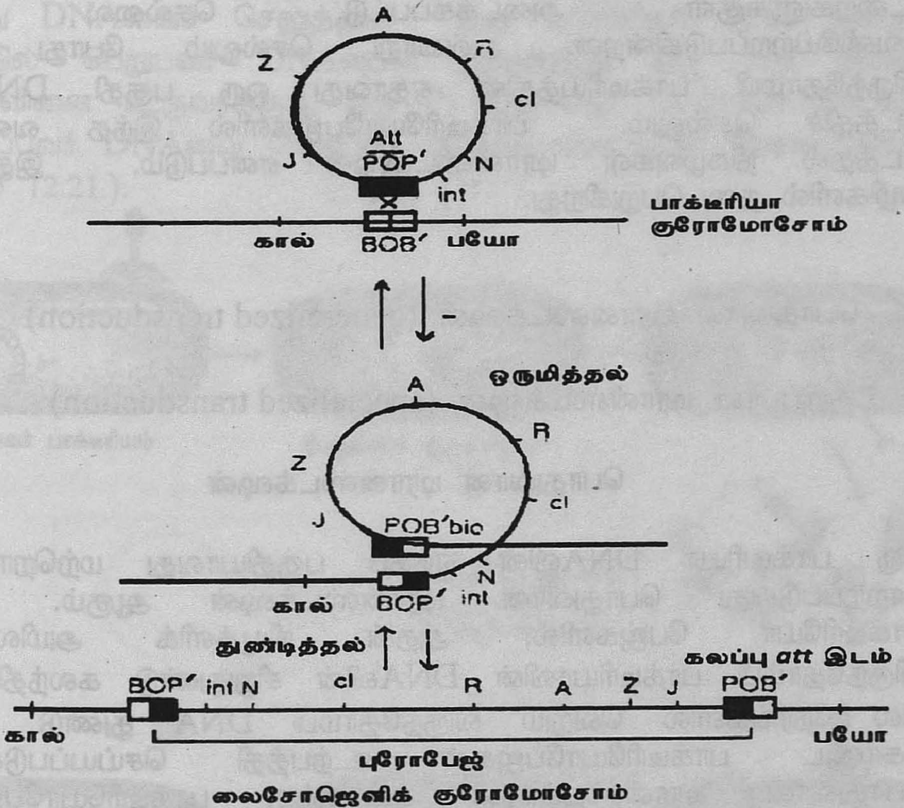
லைசோஜெனிக் சுழற்சி (Lysogenic cycle):

இதில் பேஜ் விருந்தோம்பியினுடன் இணைந்தவுடன், மரபணு பொருட்களை பாக்டீரியத்தினுள் செலுத்தும் பேஜ் DNA பாக்டீரியத்தின் குரோமோசோமுடன் இணைந்து **புரோபேஜ்** (prophage) ஆக மாறிவிடும். விருந்தோம்பியின் குரோமோசோம் இரட்டிப்படையும்போது பேஜ் DNAவும் இரட்டிப்படைகிறது. பொதுவாக பேஜ் இந்த அமைப்பாகவே தொடரும். இவை **டெம்பரேட் பேஜ்** அல்லது தற்காலிகமான பேஜ் ஆகும் (temperate phage). புரோபேஜ் கொண்ட பாக்டீரியங்கள் லைசோஜெனிக் பாக்டீரியா என்றும், புரோபேஜாக மாறிய வைரஸ்கள் லைசோஜெனிக் வைரஸ்கள் என்றும் அழைக்கப்படுகிறது (படம் 12.19.).



படம் 12.19 லைசோஜெனிக் சுழற்சி

பாக்டீரியாவுடன் ஒட்டும் பேஜின் ஜீனோமில் காணப்படும் குறிப்பிட்ட இடத்திற்கு att-P என்றும், λ பேஜின் DNA பாக்டீரியா குரோமோசோமில் ஒட்டும் இடத்திற்கு att- λ (att B) என்றும் பெயர். λ பேஜ் DNA, எ.கோலி DNAவில், கால் ஆபரான் (gal operon) மற்றும் பயோ ஆபரான் (bio operon) இடையேதான் எப்போதும் நுழையும். DNAவினை நுழைப்பதற்கு இண்டக்ரேஸ் என்ற நொதி பயன் படுகிறது (படம் 12.20.). இணைந்தபின் பேஜின் DNA மீண்டும் தனியே பிரிந்து செல்ல இண்டக்ரேஸ் நொதியுடன் எக்ஸிஜினேஸ் என்ற மற்றொரு வைரஸ் நொதியும் தேவை.



படம் 12.20. லாம்டா பேஜ் பாக்டீரியாவில் நுழையுமிடம்

பாக்டீரியோபேஜ்களில் டிரான்ஸ்டக்ஷன் (கடத்தல், செலுத்துதல்)
(Bacteriophage Transduction)

டிரான்ஸ்டக்ஷன் என்ற நிகழ்வில் பாக்டீரியா DNA ஒரு பாக்டீரியாவிலிருந்து மற்றொரு பாக்டீரியாவிற்கு ஒரு தூதுவர் பேஜ் துகளினால் மாற்றப்படும். இவை **டிரான்ஸ்டக்ஷன் பேஜ்கள்** எனப்படும். இரு வகை கடத்தல் நிகழ்வுகள் காணப்படுகின்றன. ஒரு பாக்டீரியோபேஜின் வாழ்க்கை சுழற்சியில், பேஜ் துகள் விருந்தோம்பி பாக்டீரியாவினுடன் ஒட்டிக்கொண்டு, தனது நியூக்ளிக் அமிலத்தை அந்த செல்லுக்குள் செலுத்தி விடும். இந்த நியூக்ளிக் அமிலம் படிஎடுத்தல் மற்றும் மொழிபெயர்த்தல் பெற்ற பேஜ் புரதமாகும். மேலும், இது பல மடங்கு இரட்டித்து பல்கி பெருகும். கடைசியாக புதிதாக உருவாக்கப்பட்ட நியூக்ளிக் அமிலங்கள் புரத உறைகளுக்குள் அடைக்கப்பட்டு, செல்லை விட்டு வெளியேற்றப்படுகின்றன. அவ்வாறு செல்லும் போது அவை விருந்தோம்பி பாக்டீரியத்தின் ஏதாவது ஒரு பகுதி DNAவைக் கடத்திச் செல்லும். பாக்டீரியோபேஜ்களில் இந்த வகையான கடத்தல் நிகழ்வுகள் டிரான்ஸ்டக்ஷன் எனப்படும். இது இரு வழிகளில் நடைபெறுகிறது.

1. பொதுவான டிரான்ஸ்டக்ஷன் (generalized transduction)

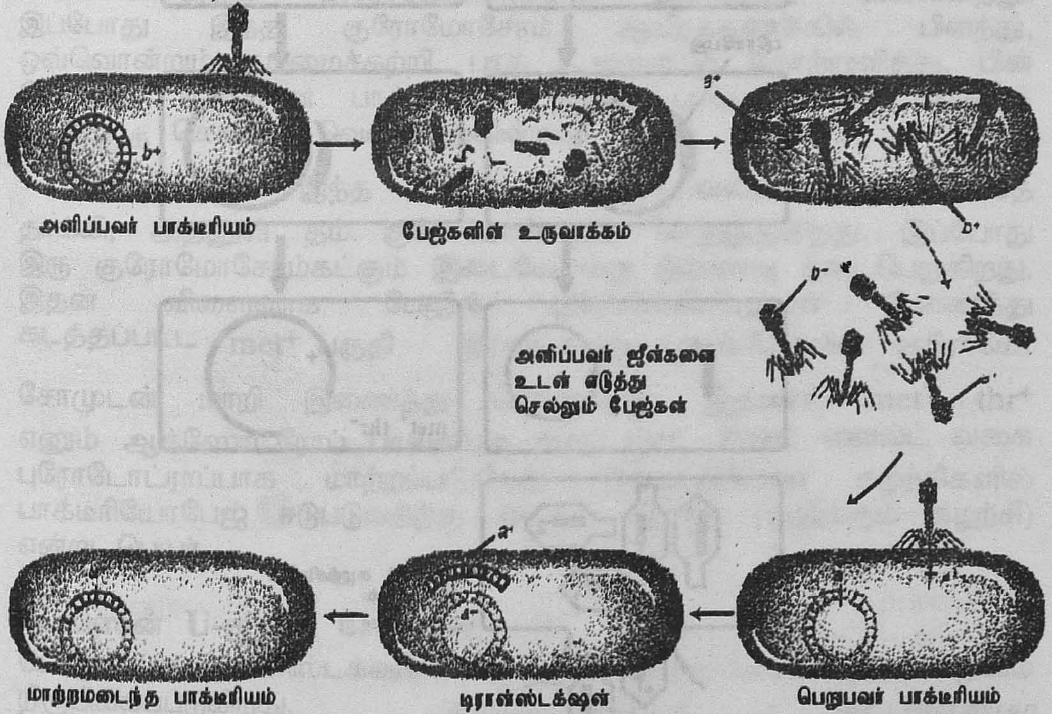
2. குறிப்பான டிரான்ஸ்டக்ஷன் (specialized transduction)

பொதுவான டிரான்ஸ்டக்ஷன்

ஒரு பாக்டீரியா DNAவின் எந்தப் பகுதியாவது மற்றொன்றுக்கு மாற்றப்படுவது பொதுவான டிரான்ஸ்டக்ஷன் ஆகும். சில பாக்டீரியோ பேஜ்களில், அதன் நியூக்ளிக் அமிலத்துடன் விருந்தோம்பி பாக்டீரியாவின் DNAவின் சிறுதுண்டு கலந்திருக்கும். சில நேரங்களில் வெறும் விருந்தோம்பி DNA துண்டு மட்டுமே கொண்ட பாக்டீரியோபேஜ்கள் உற்பத்தி செய்யப்படுகின்றன. பொதுவான டிரான்ஸ்டக்ஷன் என்பதற்கு பாக்டீரியோபேஜ்களின் காணப்படும் விருந்தோம்பி DNA துண்டு பாக்டீரியாவின் எந்தப் பகுதியைச் சார்ந்ததாகவும் இருக்கலாம் என்பதே பொருளாகும். எடுத்துக்காட்டாக எ.கோலியும், P_1பேஜும் பொதுவான டிரான்ஸ்டக்ஷனுக்கான எடுத்துக்காட்டாகும்.

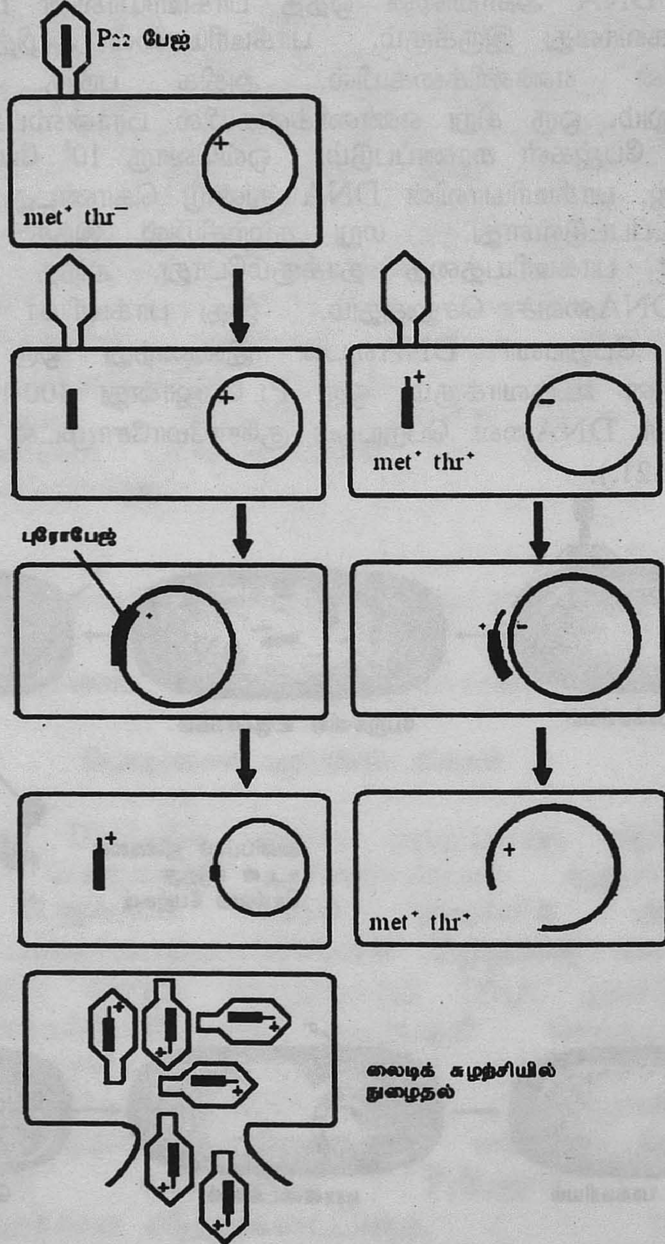
P_1 பேஜின் அழித்தல் சுழற்சியில், அதிகப்படியான P_1 பேஜ்கள் வெறும் பேஜ் DNA பொருட்களைக் கொண்டுள்ளவையாக

உருவாக்கப்படும். ஆனால், P_1 பேஜ்களிலிருந்து வெளிப்படும் நியூக்ளியேஸ் நொதியானது, பாக்டீரியாவின் குரோமோசோமை பிரித்து பல சிறு துண்டுகளாக்கும். P_1 பேஜ் DNA, இத்துண்டுகளுடன் இணைந்து புரத உறைக்குள் நுழையும். சில சமயங்களில் P_1 பேஜின் DNA அளவினை ஒத்த பாக்டீரியாவின் DNAவின் எந்தப் பகுதியாகவாவது இருக்கும். பாக்டீரியாவை அழித்து வெளியேறும் பேஜ்களின் எண்ணிக்கையில், அதிக பங்கு P_1 பேஜ்களாக இருந்தாலும், ஒரு சிறு எண்ணிக்கையில் டிரான்ஸ்டக்ஷன் துகள்கள் கொண்ட பேஜ்கள் காணப்படும். ஒவ்வொரு 10^6 பேஜ் கூட்டத்திலும், ஒரு பேஜ், பாக்டீரியாவின் DNA துண்டு கொண்டது உள்ளது என்று கணக்கிடப்பட்டுள்ளது. மறு சுழற்சியில் இந்த பேஜ் வேறொரு பெறுபவர் பாக்டீரியத்தை தாக்கும்போது, அந்த பாக்டீரியாவினுள் தனது DNAவைச் செலுத்தும். இது பாக்டீரியா DNA ஆனதால், எளிதில் பெறுபவர் DNAவுடன் இணைந்து ஒரு மறு இணைவு நிகழ்வினை உருவாக்கும், ஒரு P_1 பேஜானது 100-115kb எடையுள்ள அளிப்பவர் DNAவை பெறுபவர் குரோமோசோமுடன் இணைத்துவிடும் (படம் 12.21.).



படம் 12.21. பொதுவான டிரான்ஸ்டக்ஷன்

ஸிண்டர் மற்றும் லீடர்பர்க் (Zinder and Lederberg) (1952) முதலில் டிரான்ஸ்டக்ஷன் நிகழ்வினை சால்மோனெல்லா டைபிமியுரியம் எனும் பாக்டீரியாவில் நடத்திய சோதனை மூலம் நிரூபித்தனர்.



படம் 12.22. பொதுவான டிரான்ஸ்டக்ஷன்

சாதாரண வளர் ஊடகத்தில் வளரும் வைல்ட் வகை பாக்டீரியாக்கள் புரோட்டோட்ராப்புகள் எனப்படும். அதாவது இவை வளர, வளர் ஊடகத்தில் திரியோனின், மிதியோனின் என்ற இரு அமினோ அமிலங்கள் சேர்க்கப்பட வேண்டியதில்லை. இவை met^+ thr^+ எனப்படும். இப்பாக்டீரியாவில் இரு திடீர் மாற்ற வகைகள் உண்டு. ஒன்று *met+ thr-* இந்த வகை வளர்வதற்கு, வளர் ஊடகத்தில் திரியோனின் அமினோ அமிலம் சேர்க்கப்பட வேண்டும். மற்றொன்று $met^- thr^+$. இவ்வகை வளர்வதற்கு வளர் ஊடகத்தில் மிதியோனின் அமினோ அமிலம் சேர்க்கப்பட வேண்டும். இவ்வாறு வளர்வதற்கு உணவு துணை அலகுகள் தேவைப்படும். இந்த வகை பாக்டீரியாக்களுக்கு ஆக்ஸோட்ரோப்கள் என்று பெயர். P22 வகை பாக்டீரியாபேஜ்கள் இந்த ஆக்ஸோட்ரோப் பாக்டீரியாக்களை தாக்குகின்றன. P22 பேஜ் met^+ thr^- பாக்டீரியாவைத் தாக்கி தன் குரோமோசோமை பாக்டீரியாவினுள் செலுத்துகிறது (படம் 12.22.). இப்போது இதன் குரோமோசோமுக்கும் பாக்டீரியாவின் குரோமோசோமுக்கும் இடையே மறுஇணைவு நடைபெறுகிறது. இதன் விளைவாக பாக்டீரியாவின் met^+ குரோமோசோம் பகுதி பாக்டீரியாபேஜின் குரோமோசோமுடன் இணைந்து கொள்கிறது. இப்போது இந்த குரோமோசோம் ஆயிரக்கணக்கில் பிளந்து, ஒவ்வொன்றும் தம்மைச்சுற்றி, புரத உறையைத் தோற்றுவித்து, பின் இவ்வாறு உருவான பாக்டீரியோபேஜ்கள், பாக்டீரியாவின் சுவரைக் கிழித்துக் கொண்டு வெளியேறுகின்றன.

வெளியேறிய இந்த பேஜ் met^- thr^+ வகை பாக்டீரியாவைத் தாக்கி, அதனுள் தம் குரோமோசோமை செலுத்துகிறது. இப்போது இரு குரோமோசோம்கட்கும் இடையே மறு இணைவு நடைபெறுகிறது. இதன் விளைவாக பேஜின் குரோமோசோமுடன் இணைந்து கடத்தப்பட்ட met^+ பகுதி இரண்டாவது பாக்டீரியாவின் குரோமோ சோமுடன் மாறி இணைந்து கொள்கிறது. இதனால் met^- thr^+ எனும் ஆக்ஸோட்ரோப் பாக்டீரியா met^+ thr^+ எனும் வைல்ட் வகை புரோட்டோட்ராப்பாக மாற்றப்படுகிறது. இம்மாதிரியான சுழற்சிகளில் பாக்டீரியோபேஜ் ஈடுபடுவதற்கு லைடிக் சுழற்சி (அழிக்கும் சுழற்சி) என்று பெயர்.

டேவிஸின் U-குழாய் சோதனை

பொதுவான டிரான்ஸ்டக்ஷன் டேவிஸின் U-குழாய் சோதனை மூலம் நிரூபிக்கப்படுகிறது. *சால்மோனெல்லா டைபிமியூரியம்* புரோட்டோட்ராப்பின் வைல்ட் வகை. பினைல் அலனைன், டிரிப்டோபேன், மிதியோனின், ஹிஸ்டிடின் (phe^+ trp^+ met^+ his^+) ஆகிய அமினோ அமிலங்களை உருவாக்கிக் கொள்ளும். இந்த

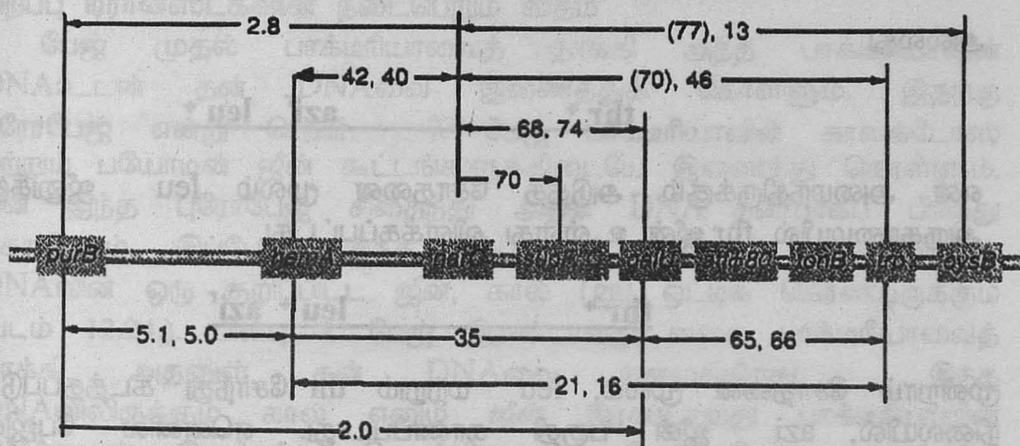
பாக்டீரியாவின் LA22 வகையால் பினைல் அலனைன் மற்றும் டிரிப்டோபேனை உருவாக்க இயலாது. ஆனால் மிதியோனின், ஹிஸ்டிடினை உருவாக்கிக் கொள்ளும் (phe^- trp^- met^+ his^+). மற்றொரு வகையான LA2 வகையால் மிதியோனின் மற்றும் ஹிஸ்டிடினை உருவாக்கிக் கொள்ள இயலாது. ஆனால் பினைல் அலனைன் மற்றும் டிரிப்டோபேனை உருவாக்கிக் கொள்ளும் (phe^+ trp^+ met^- his^-). இவ்விரு வகைகளும் U- குழாயின் இரு புஜங்களில் உள்ள வளர் ஊடகத்தில் இட்டு நிரப்பப்பட்டன (படம் 12.9.). இரு புஜங்களையும் ஒரு மென்மையான கண்ணாடி வடிகட்டி பிரிக்கும். வடிகட்டி பாக்டீரியாக்களை கடக்க விடாது. ஆனால் உணவு ஊடகத்தையும் 0.1μ வுக்கு குறைவான பொருட்களையும் கடக்க அனுமதிக்கும். மாறிமாறி அழுத்தியும், உணவு ஊடகத்தை உறிஞ்சியும், உணவு இரு புஜங்களிலும் நகருமாறு செய்யப்பட்டது. இரு ஆக்ஸோட்ராப்புகளும் தனித்தனியே பிரிக்கப்பட்டிருந்தாலும் ஒரே உணவு ஊடகத்தில் வளர்க்கப்பட்டன. சோதனை முடிவில் LA22 காணப்பட்ட புஜத்தில் phe^+ trp^+ met^+ his^+ புரோடோட்ராப்புகள் தோன்றின. LA22 காணப்பட்ட புஜத்தில் மரபியல் செயல்பாடு கொண்ட ஒரு வடிகட்டும் அமைப்பு கண்டுபிடிக்கப்பட்டது. பின்பு சோதனைகள் இது *சால்மோனெல்லா டைபிமியுரியத்தைத்* தாக்கும் பேஜ் P22தான் என்பதை நிருபித்தது. ஆகவே இச்சோதனையில் LA2 புஜத்தில் காணப்பட்ட P22 பேஜ், phe^+ trp^+ ஜீன்களை எடுத்துச் சென்று LA22 புஜத்திலுள்ள பாக்டீரியாவுடன் மறு இணைவில் ஈடுபடுத்தியது. இதன் விளைவாகவே புரோடோட்ராப்புகள் கிடைத்தது என்பது தெளிவாகிறது.

பாக்டீரியா ஜீன்களின் சங்கிலிப் பிணைப்பு

பொதுவான டிரான்ஸ்டக்ஷன் மூலம் பாக்டீரியா ஜீன்களின் சங்கிலி பிணைப்பு பற்றிய செய்திகளை அறிந்துகொள்ள முடியும். இரு ஜீன்கள் நெருக்கமாக இருக்கும் பட்சத்தில், ஒரு பேஜ் அவற்றை தன்னுடன் சேர்த்து எடுத்துச் செல்லப்படும். இது **இணை டிரான்ஸ்டக்ஷன்** (co-transduction) என்று அழைக்கப்படும்.

எ.கோலி பாக்டீரியத்தில், met^+ மற்றும் arg^+ ஜீன்களுக்கிடையேயான பிணைப்பை விளக்க, met^+ மற்றும் arg^+ ஜீன்கள் கொண்ட பாக்டீரிய இனவழிகளுடன் P_1 பேஜ்களை வளர்த்தனர். முதலில், met^+ ஜீன்கள் கொண்ட காலனிகள் அதற்கான குறைவு ஊடகத்தில் வளர்க்கப்பட்டன. அவற்றின் எண்ணிக்கை சதவீதம் கண்டறியப்பட்டது. அதேபோல், arg^+ ஜீன்களுடைய வளர்ச்சி மற்றும் எண்ணிக்கை சதவீதமும் கண்டறியப்பட்டது. இரு இனவழிகளையும் இணைத்து நடத்திய சோதனை முடிவுகளைக்

கொண்டு, இணை டிரான்ஸ்டக்ஷன் நிகழ்வெண்கள் கணக்கிடப்பட்டது. நிகழ்வெண்களின் சதவீதம் அதிகமானால் ஜீன்கள் நெருக்கமாக அமைந்திருக்கும் என்பது தெரியவந்தது (படம் 12.23.).



படம் 12.23. P_1இணை டிரான்ஸ்டக்ஷனால் உருவாகும் மரபியல் வரைபடம்

ஒரு பேஜ் எந்த அளவுடைய குரோமோசோம் துண்டினைக் கடத்துகிறது என்பதை நிரூபிக்க P1 பேஜ்களில் மேற்கொள்ளப்பட்ட மற்றொரு ஆய்வினில், அளிப்பவர்: leu^+ thr^+ azi^r → பெறுபவர் : leu^- thr^- azi^s என்ற இந்த இணைப்பில், leu^+ thr^+ azi^r அளிப்பவருடன் வளர்க்கப்பட்ட பேஜ்களை, leu^- thr^- azi^s பெறுபவர் இனவழியுடன் சேர்த்தனர். முதலில் தேர்வுசெய்யப்பட்ட குறியீட்டாளர்களின் உதவியுடன் முடிவுகள் ஆராயப்பட்டன. பின்னர், தேர்வு செய்யப்படாத குறியீட்டாளர்களின் உதவியுடன் முடிவுகள் ஆராயப்பட்டு அட்டவணை படுத்தப்பட்டன (அட்டவணை 12.2.).

அட்டவணை 12.2.

எண்	தேர்வு செய்யப்பட்ட குறியீட்டாளர்	தேர்வு செய்யப்படாத குறியீட்டாளர்
1	leu^+	50% azi^r ; 2% thr^+
2	thr^+	3% leu^+ ; 0% azi^r
3	leu^+ thr^+	0% azi^r

முதல் சோதனையில், leu ஜீன் azi ஜீனுக்கு அருகாமையிலும் thr ஜீனுக்கு தூரமாகவும் தெரிகிறது.

thr^+ ________________ leu^+ azi^r

அல்லது

thr^+ ________________ azi^r leu^+

என அமைந்திருக்கும். அடுத்த சோதனை மூலம் leu ஜீனுக்கு அருகாமையில் thr ஜீன் உள்ளது விளக்கப்பட்டது.

thr^+ ________________ leu^+ azi^r

மூன்றாம் சோதனை மூலம், leu மற்றும் thr சேர்ந்து கடத்தப்படும் நிலையில், azi ஜீன் பகுதி காணப்படாது. ஏனெனில் பேஜின் தலைப்பகுதி மூன்று ஜீன்களை சேர்த்து கடத்தும் அளவு பெரிதாக இல்லை. எ. கோலியில், இரு ஜீன்கள் 1.5 நிமிட வரைபட தூரத்தில் இருந்தால் மட்டமே P_1 பேஜ்கள் இணை டிரான்ஸ்டக்ஷன் மூலம் அவற்றைச் சேர்த்துக் கடத்தும்.

குறிப்பான (சிறப்பு) டிரான்ஸ்டக்ஷன்

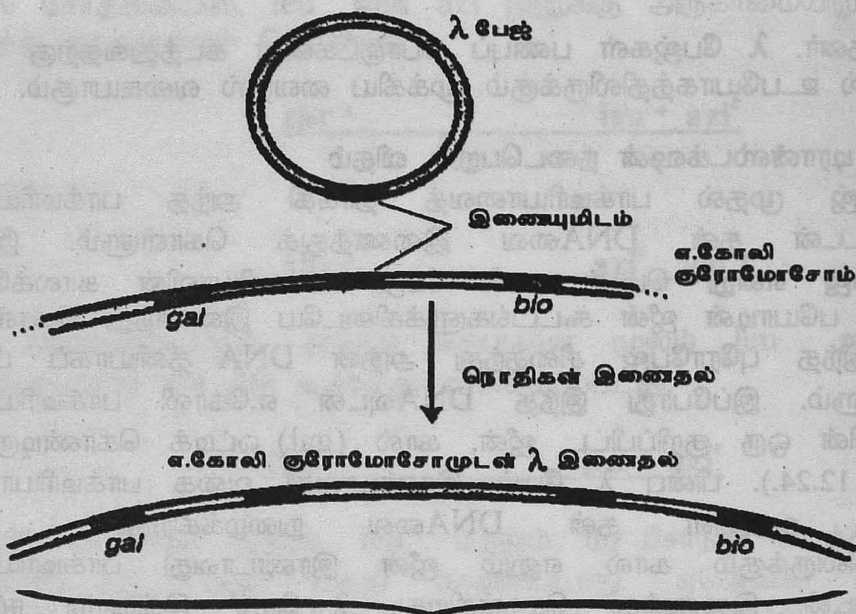
P_{22} என்பது ஒரு பொதுவான கடத்தி என்றும், அது விருந்தோம்பி DNAவின் ஏதேனும் ஒரு வெட்டப்பட்ட துண்டினை எடுத்து செல்லும் என்றும் என்பதையும் தெரிந்துகொண்டோம். இன்னும் சில பேஜ்கள் சிறப்பு டிரான்ஸ்டக்ஷனில், ஒரு பாக்டீரியாவிலிருந்து மற்றொன்றுக்கு, ஒரு குறிப்பிட்ட ஜீன் மாத்திரமே மாற்றப்படுவதற்கு உதவிசெய்கின்றன. இவைகள் சிறப்பு கடத்திகள் எனப்படும். இவை, தான் கடத்திய DNA குரோமோசோமினை, பாக்டீரியத்தின் ஓர் இடத்தில் இணைக்கும். இனப்பெருக்கம் நிகழ்வினை முடித்து, பல்கிப்பெருகி, ஒரு வெளி சுழழாக்கம் மூலம் பிரிந்து இவை வெளியேறும் போது இதன் அருகே இணைந்திருந்த பாக்டீரிய ஜீன்களையும் எடுத்துச்செல்லும்.

ஜோசுவா மற்றும் லீடர்பெர்க் (Joshua and Lederberg) இருவரும், தற்காலிக லாம்டா (λ) பேஜ்கள், எ.கோலி பாக்டீரியாவில் இம்மாதிரியான மாற்றங்களை நிகழ்த்துகின்றன என்பதையும், அவை தாக்கும் முழுநிலைகள் பற்றியும் விரிவான விளக்கங்களை

அளித்தனர். λ பேஜ்கள் பண்புப் பொருட்களை கடத்துவதற்கு அதிக அளவில் உபயோகத்திலிருக்கும் முக்கிய வைரஸ் வகையாகும்.

சிறப்பு டிரான்ஸ்டக்ஷன் நடைபெறும் விதம்

λ பேஜ் முதல் பாக்டீரியாவைத் தாக்கி அந்த பாக்டீரியாவின் DNAஉடன் தன் DNAவை இணைத்துக் கொள்ளும். இதற்கு புரோபேஜ் என்று பெயர். λ பேஜ் பாக்டீரியாவின் காலக்டோஸ் மற்றும் பயோடின் ஜீன் கூட்டங்களுக்கிடையே இணைந்து கொள்ளும். பின் இந்த புரோபேஜ் சிதைந்து அதன் DNA தனியாகப் பிரிந்து கொள்ளும். இப்போது இந்த DNAவுடன் எ.கோலி பாக்டீரியாவின் DNAவின் ஒரு குறிப்பிட்ட ஜீன், கால் (gal) ஒட்டிக் கொண்டிருக்கும் (படம் 12.24.). பின்பு λ பேஜ் இரண்டாவது வகை பாக்டீரியாவைத் தாக்கி அதனுள் தன் DNAவை நுழைக்கிறது. இந்த DNAவிலிருக்கும் கால் எனும் ஜீன் இரண்டாவது பாக்டீரியாவின் DNAவுடன் இணைந்து கொள்கிறது. λ பேஜ் இவ்வாறு ஈடுபடும் நிகழ்ச்சிக்கு லைசோஜெனிக் சுழற்சி என்று பெயர். λ பேஜ் தனது DNAவை பாக்டீரியாவின் gal மற்றும் bio ஜீன்களிடையே நுழைக்கும் என்பதால் சிறப்பு டிரான்ஸ்டக்ஷனில், λ பேஜ்கள் gal மற்றும் bio ஜீன்களையே கடத்தும். ஆலன் கேம்பல் 1962ல், λ பேஜ்களின் DNA ஒரு குறுக்கெதிர் மாற்றத்தின் மூலமே எ.கோலி பாக்டீரியாவின் குரோமோசோமுடன் இணைகிறது என்று தெரிவித்தார். குறுக்கெதிர் மாற்றப்புள்ளி லாம்டா பேஜில் ஒரு குறிப்பிட்ட இணையும் இடத்தில் (attachment site) உள்ளது. எ.கோலி பாக்டீரியத்தின் இந்த இடம் gal மற்றும் bio ஜீன்களிடையே காணப்படுகிறது. அதனிடையே λ பேஜ் தனது குரோமோசோமினை இணைத்துக்கொள்ளும். குறுக்கெதிர் மாற்றத்தை λ பேஜின் மறு இணைவு அமைப்பு நடத்தும்.



படம் 12.24. λ பேஜ் எ.கோலி குரோமோசோமுடன் இணைதல்

λ பேஜ்கள் மற்றும் எ.கோலி பாக்டீரியா DNAவின், குறிப்பிட்ட இடங்களில் மறு இணைவை தூண்டுவிக்க ஒரு சிறப்பான நொதி அமைப்பு செயல்படுகிறது. λ பேஜ்களின் இணைவு இடமும், இந்த நொதி அமைப்பும் தான் லாம்டா குரோமோசோமுடன் பாக்டீரியா குரோமோசோமினை சரியான குறியீட்டுப்புள்ளியில் ஒருமிக்கிறது (படம் 12.25.a). மேலும், அழிக்கும்போது ஒரு புரோபேஜ் பாக்டீரியாவுடன் சரியாக எந்த இடத்தில் சேர்ந்ததோ, அதே இடத்திலிருந்து பிரிந்து ஒரு சிறிய வட்டமான, λ குரோமோசோமாக உருவாகும் (படம்12.25.b). சில சமயம், தவறுதலாக லாம்டா குரோமோசோமுடன், அதன் அருகிலிருக்கும் பாக்டீரியா குரோமோசோமின் சில ஜீன்கள் சேர்ந்து பிரியும். சில லாம்டாபேஜ் ஜீன்கள், பாக்டீரியாவுடன் தங்கிவிடும். பேஜ் குரோமோசோம்களில் குறைபாடுகள் இருந்தாலும் பாக்டீரியாவின் gal மற்றும் bio ஜீன்களில் ஒன்றை எடுத்துச்செல்வதால், அங்கு நிறைவான நிகழ்வும் நடக்கிறது. அவைகள் λd gal (λ defective gal) மற்றும் λd bio (λ defective bio) ஜீன்கள் என்று குறிப்பிடப்படுகின்றன. அந்நிலையில், ஜீன்கள் பாக்டீரியோபேஜின் தலைப்பகுதிக்குள் நுழைகிறது. பின்னர், வேறொரு பாக்டீரியாவைத் தாக்குகிறது. ஒரு சாதாரண பேஜும், ஜீன் கடத்தும் பேஜும் சேர்ந்து இரட்டைத் தாக்குதல் (double infection) மூலம் அவ்விரு பேஜ்களின் ஜீன்களை, ஒரே பாக்டீரியத்தினுள் நுழைந்து, குரோமோசோம் இணைப்பு

இடத்துடன் சேர்கிறது (படம்12.25.c). இவ்வாறு பாக்டீரியாவின் gal அல்லது bio ஜீன்கள் சிறப்பு டிரான்ஸ்டக்ஷன் மூலம் கடத்தப்படுகிறது.

லைசோஜெனிக் செல்களுடன் கலப்பு செய்யும் போது, λ பேஜ்கள் அநேக செயல்பாடுகளை மேற்கொள்கின்றன.

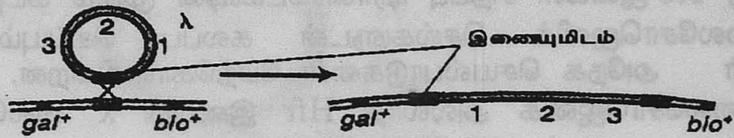
1.ஒரு லைசோஜெனிக் அல்லாத Hfr இனவழி x லைசோஜெனிக் F^- இனவழி கலப்பில் (Hfr x F^- λ), Hfr ஜீன்கள் உடைய F^- λ லாம்டா இனவழிகள் தனிமைப்படுத்தப்பட்டன.

2.(Hfr λ X F^-),இணைப்பிலிருந்து பெறப்பட்ட பிரிந்த இணைவிகளில், Hfr குரோமோசோமின் முன் பகுதிய ஜீன்கள் கிடைக்கப்பெற்றன.

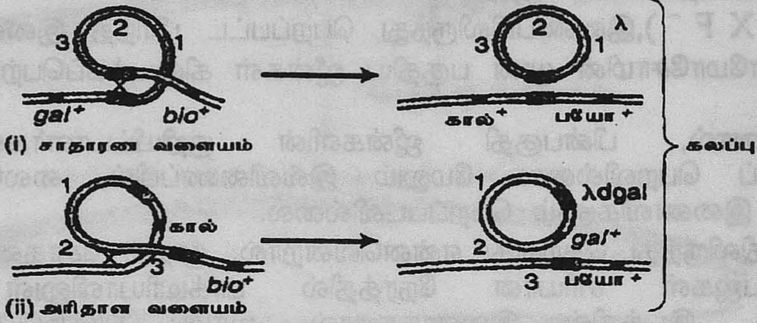
ஆனால், பின்பகுதி ஜீன்களின் குறியீட்டாளர்கள் ஏதும் கிடைக்கப் பெறவில்லை. மேலும் இவ்விணைப்பில், லைசோஜெனிக் பிரிவு இணைவிகளும் பெறப்படவில்லை.

இதிலிருந்து தெரிவது என்னவென்றால், முதல் சோதனையில், F^- லாம்டாபேஜ்கள் சரியான நேரத்தில் பாக்டீரியாவினுள் சென்று, குறிப்பிட்ட இடத்தில் இணைந்ததால் ஆரம்ப பாக்டீரிய ஜீன்கள் புரோபேஜ் பகுதி நுழையும் முன்னரே உள்நுழைந்து விட்டதால், அவை கிடைக்கப்பெற்றன. இறுதியில் உள்ள ஜீன்கள் லைட்டிக் சுழற்சியினால் பெறப்பட்ட செல்களில் அழிக்கப்படுகின்றன. தடைசெய்யப்பட்ட இனச்சேர்க்கை சோதனைகளில், λ பேஜ்கள் F^- இனவழிகளில் சரியான நேரத்தில் உள்நுழைந்து gal அல்லது bio ஜீன்கள் பகுதியின் இடையே இணைந்துகொள்ளும். (Hfr λ x F^-), இணைப்பில் λ புரோபேஜ் செல்லுக்குள் நுழைந்த உடனே அது லைட்டிக் சுழற்சிக்கு தூண்டப்படுகிறது. இதற்கு 'சைகோடிக் தூண்டுதல்' (zygotic induction) என்று பெயர். ஆனால், இரு லைசோஜெனிக் இணைப்பு (Hfr λ x F^- λ) செல்களில் சைகோடிக் தூண்டுதல் காணப்படுவதில்லை. பாக்டீரியாவில் ஏதேனும் ஒரு புரோபேஜ் இணைந்திருந்தால் அது மற்ற வைரஸ்களின் தாக்குதலை ஒரு சைட்டோபிளாச காரணியினை உற்பத்தி செய்து தடுக்கும்.

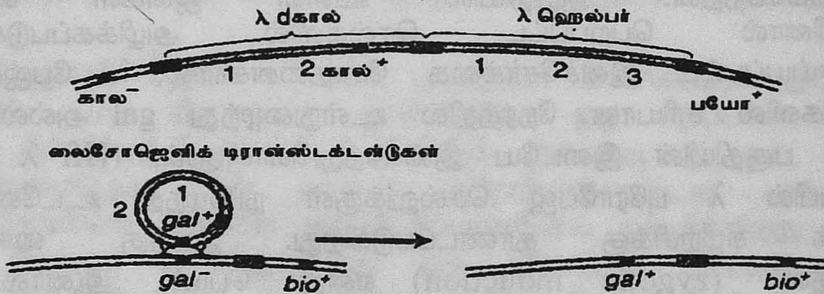
(a) லைசோஜென் உருவாக்கம்



(b) ஆரம்ப லைசேட் உருவாக்கம்



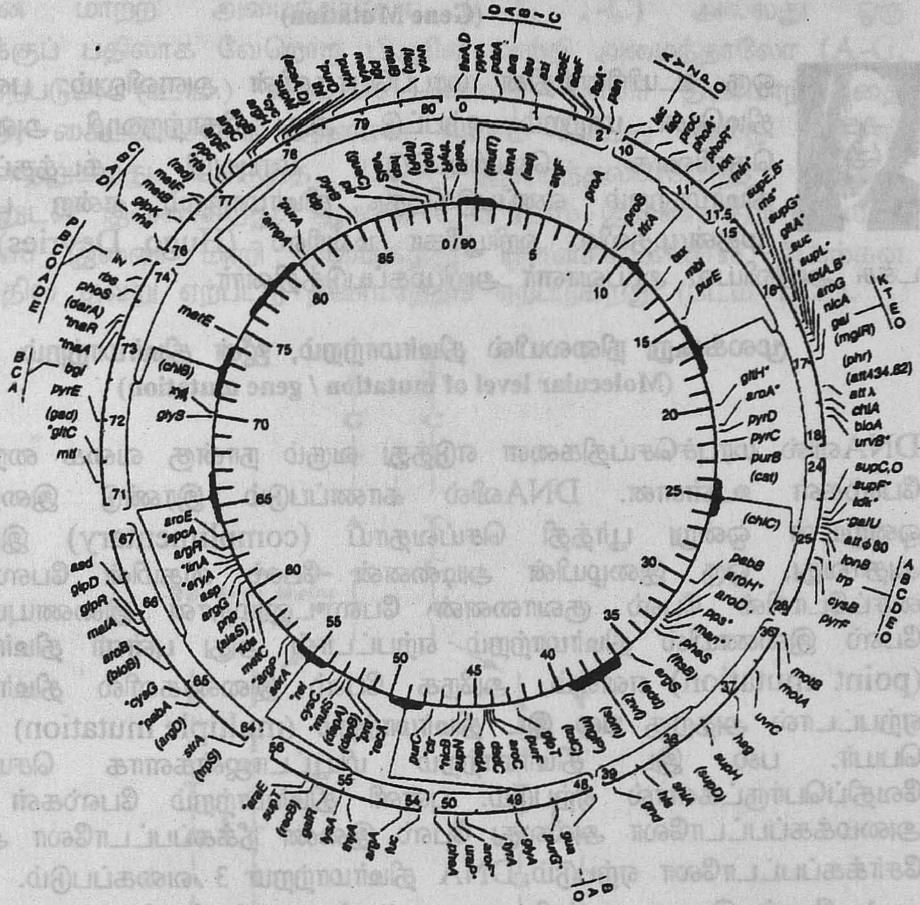
(c) ஆரம்ப லைசேட் மூலம் டிரான்ஸ்டக்ஷன்



படம் 12.25. லாம்டா பேஜில் குறிப்பிட்ட டிரான்ஸ்டக்ஷன்

இன்றைய காலகட்டத்தில், தடைபடுத்தப்பட்ட இனச்சேர்க்கை, மறு இணைவு நிகழ்வெண்கள், டிரான்ஸ்பர்மேஷன் மற்றும் டிரான்ஸ்டக்ஷன் தொழில்நுட்பங்களை இணைத்து பாக்டீரியாக்களில் குரோமோசோம் வரைபடங்கள் தயாரிக்கப்படுகிறது. ஜீன் குறியீட்டாளர்களின் உதவியுடன், 10–15 நிமிட வரைபட இடைவெளி உள்ள குரோமோசோம் வரைபடங்களை விரைவில் தயாரிக்க முடியும். 1963ல் எ.கோலி பாக்டீரியத்தில் சுமார் 100 ஜீன்களின் அமைவுகளே உள்ளதாக கண்டறியப்பட்டது. 1990ல் வெளியிடப்பட்ட எ.கோலி பாக்டீரியத்தின் வரைபடம், 1400 ஜீன்களைக் கொண்டதாக இருந்தது. மரபியல் துறையில் ஏற்பட்ட மேம்பட்ட தொழில்நுட்ப வளர்ச்சிதான் இதற்குக் காரணம் (படம் 12.26.). 1997ம் ஆண்டு கிடைத்த எ.கோலி பாக்டீரியத்தின் முழுமையான ஜீனோம் வரிசைகள் (DNA sequencing), முன்னர் வரையப்பட்ட, இயற்பிய ஜீன் வரிசையுடன் மிக அதிகமாக

ஒத்துப்போனது மரபியல் வல்லுனர்களின் மேம்பட்ட தொழில்நுட்பங்களுக்கு கிடைத்த வெற்றியாகும்.



படம் 12.26. எ.கோலி பாக்டீரியத்தின் மரபியல் வரைபடம்

13. ஜீன் திடீர்மாற்றம்
(Gene Mutation)



ஒரு உயிரினத்தின் மரபுப்பொருளின் அளவிலும், பண்பிலும் திடீரென மாற்றம் ஏற்பட்டு, அது தோற்றவழி அமைப்பில் தெளிவாக வெளிப்பட்டு, மரபுவழி கடத்தப்படுவது திடீர்மாற்றம் எனப்படுகிறது. திடீர்மாற்றம் என்ற பதத்தை முதன்முதலில் ஹியூகோ டீவ்ரிஸ் (Hugo Devries) என்ற டச்சு அறிவியல் ஆய்வாளர் அறிமுகப்படுத்தினார்.

மூலக்கூறு நிலையில் திடீர்மாற்றம், ஜீன் திடீர்மாற்றம்
(Molecular level of mutation / gene mutation)

DNAவில் மரபுச்செய்திகளை எடுத்து வரும் நான்கு வகை நைட்ரஜன் பேஸ்கள் உள்ளன. DNAவில் காணப்படும் இரண்டு இழைகளும் ஒன்றுடன் ஒன்று பூர்த்தி செய்வதாய் (complimentary) இருக்கும். அதாவது, ஒரு இழையின் அடினைன் பேஸ் தைமின் பேஸுடனும், சைட்டோசின் பேஸ் குவானைன் பேஸுடனும்தான் இணையும். ஒரு பேஸ் இணையில் திடீர்மாற்றம் எற்பட்டால் அது **புள்ளி திடீர்மாற்றம்** (point mutation) எனவும், அநேக பேஸ் இணைகளில் திடீர்மாற்றம் ஏற்பட்டால் அதற்கு **பல இட திடீர்மாற்றம்** (multiple mutation) எனவும் பெயர். பல இட திடீர்மாற்றம் மியூட்டாஜன்களாக செயல்படும் வேதிப்பொருட்களால் ஏற்படும். புள்ளி திடீர்மாற்றம் பேஸ்கள் மாற்றி அமைக்கப்பட்டாலோ அல்லது பேஸ் இணை நீக்கப்பட்டாலோ அல்லது சேர்க்கப்பட்டாலோ ஏற்படும். DNA திடீர்மாற்றம 3 வகைப்படும்.

1. பேஸ் இணை மாற்றி அமைதல் (base substitution)
2. நீக்கல் (deletion) திடீர்மாற்றம்
3. சொருகு (insertion) திடீர்மாற்றம்

பேஸ் இணை மாற்றி அமைதல்

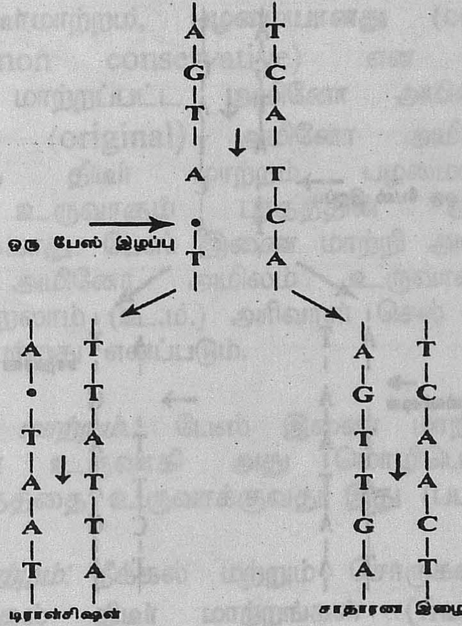
பேஸ் இணை மாற்றி அமைதல் பொதுவாக புள்ளி திடீர்மாற்றம் எனப்படும். இது இரு வகைப்படும்.

1. டிரான்சிஷன் (Transition)

2. டிரான்ஸ்வர்ஷன் (Transversion)

டிரான்சிஷன் அல்லது நிலைதிரிபு

டிரான்சிஷன் திடீர்மாற்றம் ஒரு பைரிமிடினுக்குப் பதிலாக மற்றொரு பைரிமிடின் மாற்றி அமைந்தாலோ (C-T, T-C) அல்லது ஒரு பியூரினுக்குப் பதிலாக வேறொரு பியூரின் மாற்றி அமைந்தாலோ (A-G, G-A) ஏற்படும். (உ.ம்.) நைட்ரஸ் அமிலம், புள்ளி திடீர்மாற்றத்தை ஏற்படுத்தி, சைட்டோசினில் அமைன் நீக்கம் செய்து அதை யுராசில் ஆக மாற்றுகிறது. அடுத்த DNA இரட்டித்தலின்போது யுராசில் அடினைனுடன் இணைகிறது. ஆகவே C-G பேஸ் இணைக்குப் பதிலாக T-A பேஸ் இணை மாறி அமைகிறது. டிரான்சிஷனினால் பேஸ்கள் இணைவதில் தவறு ஏற்பட்டு திடீர்மாற்றம் ஏற்படுகிறது (படம் 13.1.).

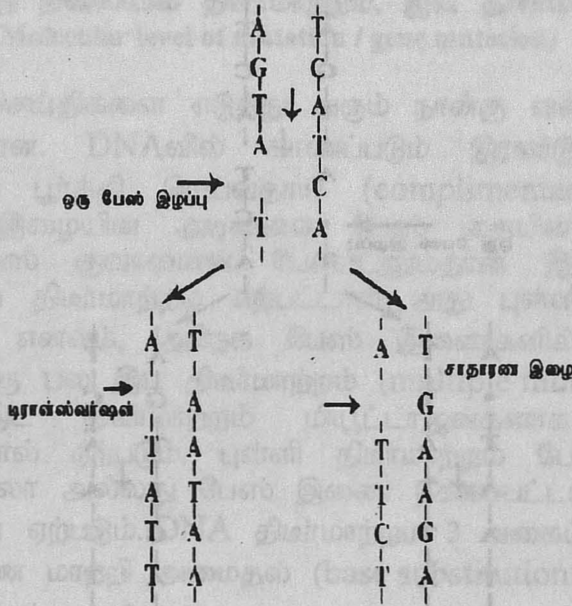


படம் 13.1. டிரான்சிஷன் திடீர்மாற்ற முறை

சில வேதியல் பொருட்கள் DNA பேஸ்களின் மூலக்கூறு அமைப்பைப் போன்ற அமைப்புடையனவாய் இருக்கின்றன. இவை **பேஸ் ஒப்பானவைகள்** (பேஸ் அனலாக்குகள் - base analogs) எனப்படுகின்றன. சில சமயங்களில் DNA மூலக்கூறு தன் இயல்பான பேஸ்களோடு இவற்றையும் கொண்டிருக்கின்றன. இதன் விளைவாக திடீர்மரபு மாற்றங்கள் ஏற்படும். (எ.கா.) 5- புரோமோ யுராசில் தைமின் பேஸின் ஒப்பானவையாகும். இதனால் A-T பேஸ் இணைக்குப் பதிலாக G-C பேஸ் இணை ஏற்படுகிறது. இவ்வாறு தவறான பேஸ் இணைவுகள் ஏற்படுவதால், திடீர்மரபு மாற்றம் ஏற்படுகிறது.

டிரான்ஸ்வர்ஷன் அல்லது மாற்றிடுகள்

இவ்வகை திடீர்மாற்றத்தில் ஒரு பியூரின் பேஸுக்குப் பதிலாக ஒரு பைரிமிடின் பேஸ் அல்லது ஒரு பைரிமிடின் பேஸுக்குப் பதிலாக ஒரு பியூரின் பேஸ் மாறி அமைகிறது (படம் 13.2.). அதாவது A-T பேஸ் இணைக்குப் பதிலாக T-A பேஸ் இணை அல்லது C-G பேஸ் இணை மாறி அமைகிறது. எத்தில் மீதேன் சல்போனேட் அல்லது எத்தில் ஈதேன் சல்போனேட் சில சமயங்களில் டிரான்ஸ்வர்ஷன் ஏற்படுத்தும். இந்த இரு கூட்டுப்பொருட்களிலும் உள்ள எத்தில் தொகுப்பை பியூரின் பேஸின் 7-வது இடத்திலுள்ள நைட்ரஜனுக்கு கொடுக்கமுடியும்.



படம் 13.2. டிரான்ஸ்வர்ஷன் திடீர்மாற்ற முறை

இதனால் நைட்ரஜனில் ஆல்கிலேஷன் (alkylation) ஏற்பட்டு அதன் விளைவாக பேஸ் சர்க்கரையில் நீராற்பகுத்தல் (hydrolyse) ஏற்படுவதால் DNAவின் ஒரு இழையில் இடைவெளி ஏற்படுகிறது. ஆகவே DNA இரட்டித்தலின்போது நான்கு பேஸ்களில் ஏதேனும் ஒன்று நுழைக்கப்படலாம். இதனால் டிரான்சிஷன் அல்லது டிரான்ஸ்வர்ஷன் ஏற்படலாம் அல்லது திடீர்மாற்றமே நடைபெறாமலும் இருக்கலாம்.

புரதங்களைக் குறிக்கும் DNA வரிசைகளில் ஏற்படும் புள்ளி திடீர் மாற்றங்கள் அமைதியாகவோ (silent), தவறான பொருள்

தருவதாகவோ (missense) அல்லது பொருளற்றதாகவோ (non sense) இருக்கலாம்.

அமைதி திடீர்மாற்றம்: பேஸ்இணை மாற்றி அமையும் நிகழ்வு ஒரு கோடானின் மூன்றாவது இடத்தில் நடந்தால், அதையொத்த வேறொரு கோடான் உருவாக வாய்ப்புள்ளது. இந்த ஜீனால் குறியிடப்படும் அமினோ அமிலம் மாற்றப்படாததால் இந்த திடீர்மாற்றம் **அமைதி திடீர் மாற்றம்** எனப்படும் (படம் 13.3.).

தவறான பொருள் தரும் திடீர் மாற்றம்: பேஸ் இணை மாற்றி அமையும் நிகழ்வால் ஒரு புது கோடான் உருவாகி அது வழக்கமாயிராத வேறொரு அமினோ அமிலத்தைக் குறித்தால் அதனால் முற்றிலும் மாறுபட்ட பாலிபெப்டைட் சங்கிலி உருவாகி (படம் 13.3.) மாற்றப்பட்ட அமினோ அமிலத்தைப் பொறுத்து, தவறான பொருள்தரும். திடீர்மாற்றம், **பழமையானது** (conservative) மற்றும் **பழமையற்றது** (non conservative) என இருவகைப்படுகிறது. எடுத்துக்காட்டாக மாற்றப்பட்ட அமினோ அமிலத்தின் அமைப்பும், பண்புகளும் மூல (original) அமினோ அமிலத்தைப் போலவே இருந்தால் இந்த திடீர் மாற்றம் பழமையானது எனப்படும். இம்மாற்றத்தால் உருவாகும் புரதத்தின் அமைப்பு, பணியில் மாறுபாடுகள் இருக்காது. பேஸ் இணை மாற்றி அமைவதால் முற்றிலும் மாறுபட்ட ஒரு அமினோ அமிலம் உருவானால் அது தீங்கு தரக்கூடியதாய் மாறலாம் (உ.ம்.) அரிவாள் செல் புள்ளி திடீர் மாற்றம் இவ்வகை பழமையற்றது எனப்படும்.

பொருளற்ற திடீர் மாற்றம்.: பேஸ் இணை மாறி அமைவதால் ஒரு முடியும் கோடான் உருவாகி அது மொழிபெயர்த்தலை நிறுத்தி, பணிசெய்யாத புரதத்தை உருவாக்குவது இது (படம் 13.3.).

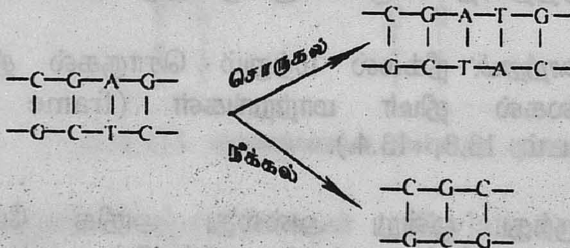
நீக்கல் திடீர் மாற்றம்: நீக்கல் மற்றும் சொருகல் திடீர் மாற்றங்கள் **கட்டமைப்பு விலகல் திடீர் மாற்றங்கள்** (frame shift mutation) எனப்படுகிறன (படம் 13.3, 13.4.).

DNAவிலிருந்து ஒன்று அல்லது அதிக பேஸ் இணைகள் நீக்கப்படல், நீக்கல் திடீர் மாற்றம் எனப்படும். ஒன்று அல்லது இரு பேஸ்கள் நீக்கப்பட்டால் கட்டமைப்பு மாறி பணியாற்றாத புரதம் உருவாகும்.

சொருகு திடீர் மாற்றம்: இதில் ஒன்று அல்லது ஒன்றுக்கும் மேற்பட்ட பேஸ் இணைகள் DNAவில் சேர்க்கப்படுகின்றன.

சாதாரணம்	AUG met	GCC ala	TGC cys	AAA lys	CGC arg	TGG trp
அமைதி	AUG met	GCT ala	TGC cys	AAA lys	CGC arg	TGG trp
பொருளற்றது	AUG met	GCC ala	TGA ...	AAA ...	CGC ...	TGG ...
தவறான பொருள்	AUG met	GCC ala	GGC arg	AAA lys	CGC arg	TGG trp
கட்டமைப்பு விலகல் நீக்கல் 1	AUG met	GC– ala	TGC glu	AAA asn	CGC ala	TGG
கட்டமைப்பு விலகல் சொருகல் 1	AUG met	GCC ala	C TGC leu gln	AAA thr	CGC leu	TGG
சொருகல்1 + நீக்கல்1	AUG met	GCC ala	C TGC leu gln	AAA thr	–GC	TGG trp

படம் 13.3. பல்வேறு வகை திடீர்மாற்றங்கள்



13.4. கட்டமைப்பு விலகல் திடீர்மாற்றங்கள்

ஒரே ஒரு பேஸ் மாற்றி அமைவதன் விளைவு மிகவும் அதிகமாக இருக்கும். அது DNA மூலக்கூற்றின் அதன் இருப்பிடத்தை பொறுத்து இருக்கும். ஒரு பேஸ் மாற்றம் மூவெழுத்து குறியீட்டின் இயல்பை மாற்றி மாறுப்பட்ட புரத உற்பத்திக்குக் காரணமாக ஆகிவிடுகிறது.

இது கீழ்க்கண்ட மூன்று வித மாறுபாடுகளை ஏற்படுத்த வாய்ப்புண்டு.

1. மூன்று பேஸ்கள் சேர்ந்து ஒரு அமினோ அமிலத்துக்கு குறியீடு (codon) கொடுக்கிறது. மூவெழுத்து குறியீடு டிஜெனரேட் (degenerate) பண்பினைக் கொண்டிருப்பதால் ஒவ்வொரு அமினோ அமிலத்துக்கும் ஒன்றுக்கும் மேற்பட்ட கோடான்கள் இருக்கிறது. புள்ளி திடீர்மாற்றம் கோடானில் மாறுபாடு ஏற்படுத்தினாலும், அந்த குறியீடு அதே அமினோ அமிலத்துக்குப் பொருத்தமாகவும் அமையலாம். உதாரணமாக AGU என்பது செரின் என்ற அமினோ அமிலத்துக்கு குறியீடு தரும் கோடான். AGUவில் உள்ள Uவானது Cயினால் மாற்றப்படும்போது உண்டாகும் AGC கோடானும் செரினுக்கு குறியீடு தரும்.
2. பேஸ்கள் மாற்றி அமைக்கப்படுவதால் உண்டாகும் மாறுப்பட்ட கோடான் சில சமயங்களில் வேறொரு அமினோ அமிலத்தை உற்பத்தி செய்யும். ஆகவே தவறான புரத உற்பத்தி ஏற்படும்.
3. ஒவ்வொரு அமினோ அமிலத்துக்கும் ஒரு தனிப்பட்ட கோடான் இருப்பதால் DNA மூலக்கூற்றில் பேஸ்களின் அமைப்புதான் ஒரு பாலிபெப்டைடு சங்கிலியில் அமினோ அமிலங்களின் தொடர்வரிசையை நிர்ணயிக்கும். UGA, UAA,UAG ஆகிய மூன்று கோடான்களும் எந்த ஒரு அமினோ அமிலத்துக்கும் குறியீடு தருவதில்லை. ஆகவே அவைகள் பாலிபெட்டைட் சங்கிலி முடிவடைவதற்கு குறியீடு தரும் முடிவு கோடான்களாகப் பயன்படுகின்றன. ஒரு ஜீனின் தொடர் வரிசையில் மேற்கூறிய முடிவு கோடான்களில் ஏதேனும் ஒன்று புகுத்தப்பட்டாலும், புரத சங்கிலி முழுமையாக ஆக்கப்படுவதற்கு முன்பே முடிவு பெற்றுவிடும்.

தூண்டப்பட்ட திடீர்மாற்றம் (Induced mutation)

பொதுவாக ஒரு ஜீன் தன் செயலை இழக்கும்போது திடீர்மாற்றம் ஏற்படுகிறது. இயற்கையில் திடீர்மாற்றம் ஏற்பட்டாலும் ஆய்விற்காக சோதனைச்சாலை வளர்ப்புயிரிகளில், திடீர்மாற்றம் செயற்கை முறையில் தூண்டப்பட்டு, அதன் விளைவு பல தலைமுறைகளுக்கு ஆராயப்படுகிறது. கதிர்வீச்சு மற்றும் சில வேதியக் காரணிகளைக் கொண்டு நியூக்ளிக் அமிலத்தில் திடீர்மாற்றத்தை ஏற்படுத்தலாம். இவ்வித திடீர்மாற்றங்கள் எ.கோலி மற்றும் *நியூரோஸ்போராவின்* ஆய்வுக்கூட வளர்ப்புகளில் ஆராயப்பட்டுள்ளன.

அயனி கதிர் இயக்கத்தால் ஏற்படும் திடீர்மாற்றங்கள்

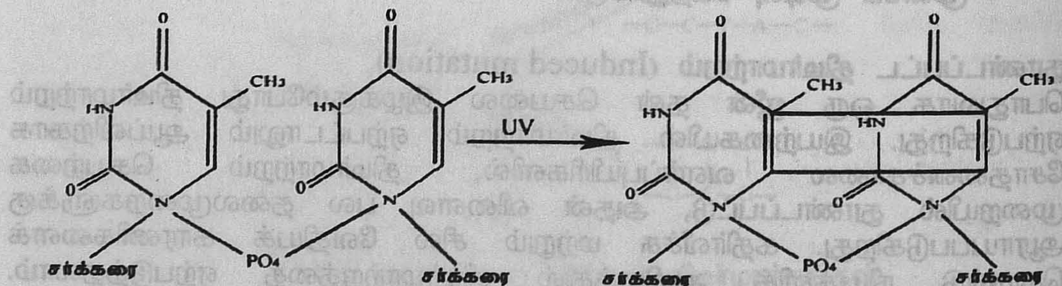
X-கதிர்கள் DNA மூலக்கூற்றில் பல விதங்களில் திடீர்மாற்றத்தைத் தோற்றுவிக்கின்றன. X-கதிர்வீச்சு மரபுப் பொருட்களின் அமைப்பில் அதிக அளவு பாதிப்பு ஏற்படுத்துகிறது. DNA இழைகளில் ஒன்று அல்லது ஒன்றுக்கும் மேற்பட்ட இடங்களில் உடைத்தல் ஏற்படுத்தி, DNA இழைகளின் துண்டுகளை நீக்கம் செய்யும் அல்லது இடமாற்றம் (translocation) ஏற்படுத்தும். இதன் விளைவாக DNA அநேக பேஸ்களை இழந்துவிடும் அல்லது பேஸ்கள் இடம் மாற்றி அமைக்கப்படும். இதனால் செல்கள் புரத ஆக்கம் செய்யும் திறனை இழந்து விடுகின்றன. குறுகிய காலத்திற்கு மிகக்குறைவான அளவு X-கதிர்கள் உபயோகித்தால் கூட புள்ளி திடீர்மாற்றம் ஏற்படலாம்.

அயனி கதிரியக்கத்தால் செல்களின் வேதிய சமநிலை மாறுபட்டு, செல்கள் இறக்க நேரிடலாம். அயனி கதிரியக்கத்தால் செல்பிரிதலில் தாமதம் ஏற்படுகிறது.

புற ஊதாக்கதிர்களால் ஏற்படும் திடீர்மாற்றம்

DNA மூலக்கூற்றில் புற ஊதாக்கதிர்களின் முக்கிய விளைவானது ஒரு பேஸ் மற்றொரு பேஸாக மாற்றப்படுவது ஆகும். அதாவது ஒரு பியூரின் மற்றொரு பியூரினாக மாற்றப்படும் அல்லது ஒரு பைரிமிடின் மற்றொரு பைரிமிடினாக மாற்றப்படும்.

புற ஊதாக்கதிர்களினால் புள்ளி திடீர்மாற்றம் ஏற்படுகிறது. மேலும் ஒன்று அல்லது ஒன்றுக்கும் மேற்ப்பட்ட பேஸ்களின் நீக்கம் ஏற்படுகிறது. இதனால் அசாதாரண புரத ஆக்கம் ஏற்படுகிறது. புற ஊதாக்கதிர்களின் தாக்கத்தினால் ஒரு DNA இழையில் அடுத்தடுத்து அமைந்துள்ள இரு தைமின் பேஸ்கள் தைமின் டைமரை உண்டாக்கும். டைமர்கள் DNAவில் இருந்தால் செல்கள் இறந்துவிடும் (படம் 13.5.).



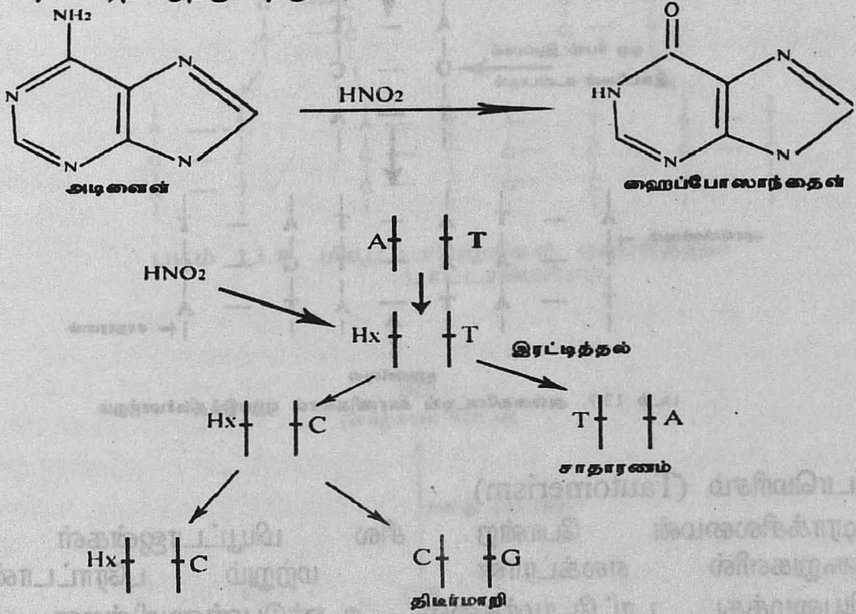
படம் 13.5. தைமின் டைமர் உருவாக்கம்

வேதியப்பொருட்களால் ஏற்படும் திடீர்மாற்றங்கள்

3-ஃபுளூரோ யுராசில், 5-புரோமோ யுராசில், 2-அமைனோ பியூரின் போன்ற பேஸ்-ஒப்பானவைகள் திடீர்மாற்றத்தை ஏற்படுத்தும்.

நைட்ரஸ் அமிலம்

நைட்ரஸ் அமிலம் DNA பேஸ்களை மாறுபாடு அடையச் செய்கிறது. RNAவை மரபுப்பொருளாகக் கொண்ட அநேக வைரஸ்களில் இது கண்டறியப்பட்டுள்ளது. நைட்ரஸ் அமிலம் சைட்டோசினை யுராசிலாக மாற்றும். அமினோ தொகுப்புகள் ஹைட்ராக்ஸி தொகுப்புகளாக மாற்றப்படும். உதாரணமாக, அடினைன் ஹைப்போசாந்தைனாகவும், சைட்டோசின் யுராசிலாகவும், குவானைன் சாந்தைனாகவும் மாறுகிறது. இதன் விளைவாக ஹைப்போசாந்தைன் சைட்டோசினுடனும், யுராசில் அடினைனுடனும் இணையும். அதேபோல சாந்தைன் சைட்டோசினுடன் இணையும். இவ்வாறாக நைட்ரஸ் அமிலம் சைட்டோசின் - ஹைப்போசாந்தைன் பேஸ் இணைவு மூலம் AT ←→CG டிரான்சிஷன் ஏற்படுத்துகிறது (படம் 13.6.).



படம் 13.6. நைட்ரஸ் அமிலத்தால் ஏற்படும் திடீர்மாற்றம்

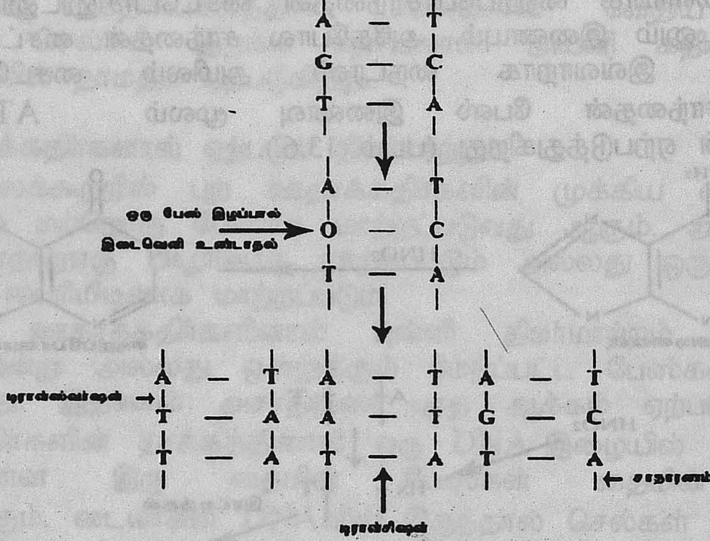
அக்ரிடின் சாயங்கள் (acridine dyes)

அக்ரிடின் சாயங்கள் DNA மூலக்கூற்றிலிருந்து ஒன்று அல்லது ஒன்றுக்கும் மேற்பட்ட பேஸ் இணைகளை நீக்கி அல்லது சேர்த்து ஃபிரேம்ஷிப்ட் திடீர்மாற்றத்தை உண்டாக்கும்.

ஆல்கிலேட்டிங் காரணிகள்

எத்தில் ஈதேன் சல்போனேட் போன்ற சில ஆல்கிலேட்டிங் காரணிகள், எத்தில் தொகுப்பை குவானைனுடன் சேர்த்து இரட்டித்தல் நடைபெறாத DNAயில் செயல்புரிகிறது. இதன் விளைவு DNAயில் பல இரட்டித்தல் நடந்த பின்பு மிகவும் தாமதமாக வெளிப்படும். ஆல்கிலேட்டிங் காரணிகள் எத்தில் அல்லது மீதைல் தொகுப்புகளை குவானைனுடன் சேர்த்து அதை அடினைனின் ஒப்பானதாகச் செய்கிறது.

சில சமயங்களில் ஆல்கிலேட்டிங் காரணிகள் பியூரின் நீக்கம் செய்து ஒரு பேஸ் இழப்பை ஏற்படுத்தும். பேஸ் இழப்பினால் DNA வில் ஒரு இடைவெளி உண்டாகும். அந்த இடைவெளி ஒரு தவறான பேஸினால் நிரப்பப்பட்டு திடீர்மாற்றம் ஏற்படுகிறது (படம் 13.7.).



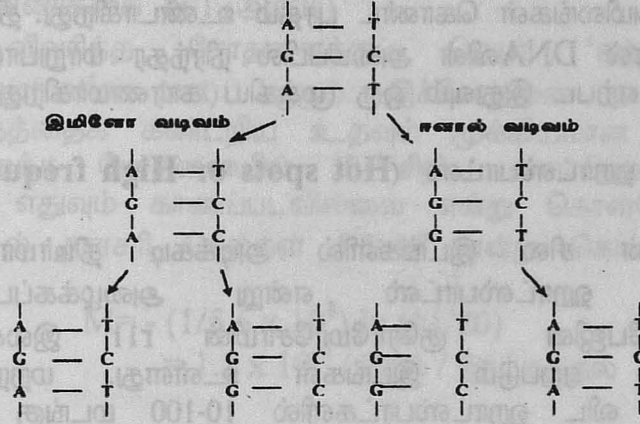
படம் 13.7. அல்கைலேட்டிங் காரணிகளால் ஏற்படும் திடீர்மாற்றம்

டாட்டோமெரிசம் (Tautomerism)

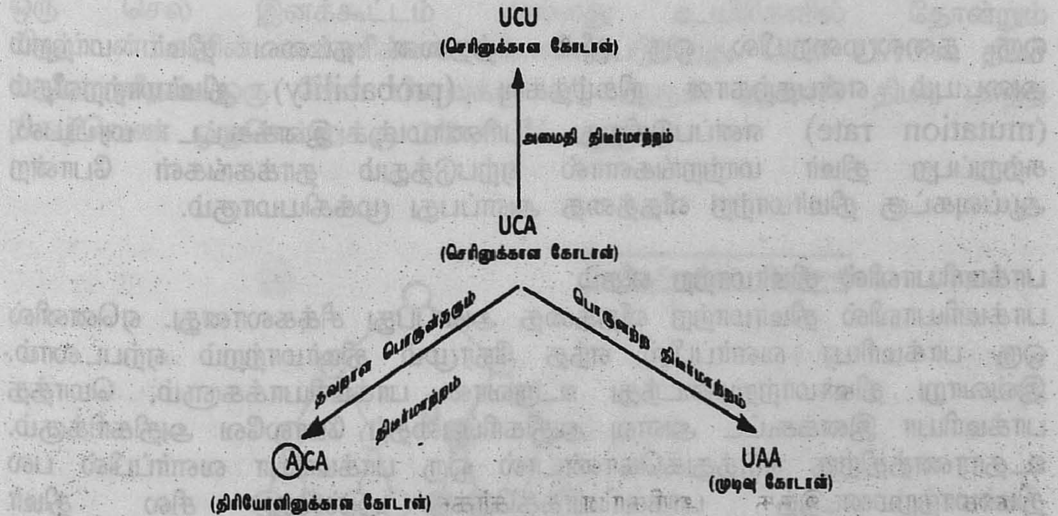
ஹைடிராக்சிலமைன் போன்ற சில மியூட்டாஜன்கள் DNA மூலக்கூறுகளில் எலக்ட்ரான் மற்றும் புரோட்டான்களை மாற்றியமைத்து டாட்டோமர்களை உண்டுபண்ணுகின்றன. DNA மூலக்கூறுகளின் மின்னணு அமைப்பில் ஏற்படும் மாற்றத்தால் இயல்பான பேஸ் இணை அமைப்பில் மாறுதல் ஏற்படும். ஆகவே ஒரு பியூரின் மற்றொரு பியூரினுடனும் அல்லது ஒரு பைரிமிடின் மற்றொரு பைரிமிடினுடனும் இணையும். இந்த மாற்றத்தை டாட்டோமெரிசம் கொண்டு விளக்கலாம். இயல்பு நிலையில் அடினைன் தைமினுடன் இணையும். ஆனால் இமினோ வடிவ அடினைன் சைட்டோசினுடன் இணையும். இந்த அரிதான சேர்க்கை நிலையற்றது. அடுத்த இரட்டித்தலின் போது மறுபடியும் இயல்பான பேஸ் இணையாக மாறிவிடும் (படம் 13.8.).

புள்ளி திடீர் மாற்றங்களின் விளைவுகள்

1. **அமைதி திடீர்மாற்றம்:** மாறுபட்ட பேஸ் மூலம் கொண்ட கோடான் அதே அமினோ அமிலத்துக்கு குறியீடு கொடுத்தால் காணத்தகு விளைவுகள் உண்டாவதில்லை. (உ.ம்.) UCA கோடான் UCUவாக மாறினாலும் சிரைன் என்ற அதே அமினோ அமிலத்திற்குத்தான் குறியீடு கொடுப்பதால் பாதிப்பு இல்லை (படம் 13.9.).



படம் 13.8. மியூட்டாஜென்கள் ஏற்படுத்தும் டாட்டாமெரிசம்



படம் 13.9. அமைதி திடீர்மாற்றம்

2. **தவறான பொருள் தரும் திடீர் மாற்றம்:** மாற்றப்பட்ட பேஸ் மூலம் வேறொரு அமினோ அமிலத்துக்கு குறியீடு கொடுப்பதால் புரத மூலக்கூற்றின் செயல் மாறுபட்டு, விரும்பத்தகாத விளைவுகள் ஏற்படுகின்றன. (உ.ம்.) அரிவாள் செல் இரத்தசோகை.

3. **பொருளற்ற திடீர் மாற்றம்:** புரத ஆக்கம் அறைகுறையாய் முடிவதால் விரும்பத்தகாத விளைவுகள் ஏற்றாடலாம்.

4. **ஃப்ரேம்ஷிப்ட் திடீர் மாற்ற விளைவுகள்:** ஒரு ஜீனில் பேஸ்கள் சேர்க்கப்படுவதாலோ அல்லது நீக்கப்படுவதாலோ tRNAவின் வாசிக்கப்படும் கட்டமைப்பு மாறுபாடு அடைவதால், பல மாறுபட்ட அமினோ அமிலங்கள் கொண்ட புரதம் உண்டாகிறது. திடீர் மாற்றத்தினால் DNAவின் அமைப்பில் நிரந்தர மாறுபாடு ஏற்படுவதால் புற்றுநோய் எற்பட இதுவும் ஒரு முக்கிய காரணமாகிறது.

திடீர்மாற்ற ஹாட்ஸ்பாட்ஸ் (Hot spots or High frequency mutation sites)

ஒரு ஜீனின் சில இடங்களில் அடிக்கடி திடீர்மாற்றம் நிகழும். அவைகள் ஹாட்ஸ்பாட்ஸ் என்று அழைக்கப்படுகிறது. T4 பாக்டீரியோபேஜின் குரோமோசோமின் r11 இலக்கில், அநேக திடீர்மாற்றம் ஏற்படும் இடங்கள் உள்ளது. மற்ற இடங்களில் நிகழ்வதை விட ஹாட்ஸ்பாட்களில் 10-100 மடங்கு அதிக அளவு திடீர்மாற்றம் நிகழ்கிறது.

திடீர் மாற்ற வீதம், திடீர் மாற்ற நிகழ்வெண் (Mutation Rate, Mutation frequency)

ஒரு தலைமுறையில் ஒரு ஜீன் எத்தனை தடவை திடீர் மாற்றம் அடையும் என்பதற்கான நிகழ்தகவு (probability) **திடீர்மாற்றவீதம்** (mutation rate) எனப்படுகிறது. பரிணாமம், இனக்கூட்ட மரபியல், சுற்றுப்புற திடீர் மாற்றங்களால் ஏற்படுத்தும் தாக்கங்கள் போன்ற ஆய்வுகட்கு திடீர்மாற்ற வீதத்தை அளப்பது முக்கியமாகும்.

பாக்டீரியாவில் திடீர்மாற்ற வீதம்

பாக்டீரியாவில் திடீர்மாற்ற வீதத்தை அளப்பது சிக்கலானது. ஏனெனில் ஒரு பாக்டீரியா வளர்ப்பில் எந்த நேரமும் திடீர்மாற்றம் ஏற்படலாம். இவ்வாறு திடீர்மாற்றமடைந்து உருவான பாக்டீரியாக்களும், மொத்த பாக்டீரியா இனக்கூட்ட அளவு அதிகரிப்பதைப் போலவே அதிகரிக்கும். உதாரணத்திற்கு எடுத்துக்கொண்டால் ஒரு பாக்டீரியா வளர்ப்பில் பல திடீர்மாற்றமடைந்த பாக்டீரியாக்களோ அல்லது சில திடீர் மாற்றமடைந்த பாக்டீரியாக்களோ அல்லது திடீர் மாற்றமே அடையாத

பாக்டீரியாக்களோ காணப்படலாம். ஒரு 'M' என்ற தலைமுறையில் திடீர்மாற்ற வீதத்தின் நிகழ்வுகள் *Po* என்று கொண்டால், மொத்த N செல்களின் வளர்ப்பில் திடீர் மாற்றமடையாத பாக்டீரியாக்களை (மியூட்டன்ட்கள்) கிடைக்கப்பெறுவது பாய்ஸான் பரவலின்படி (Poisson distribution) e^{-MN} ஆகும்.

ஆகவே,

$$M = - (1/N) \ln Po$$

(1 செல்லிலிருந்து N செல்களைப் பெற நடைபெறும் செல் பிளத்தலின் எண்ணிக்கை N-1 ஆகும்)

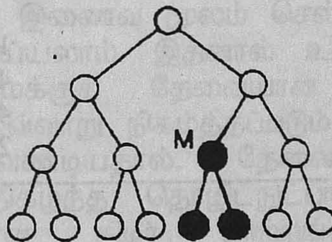
மேலே விவரித்த சோதனைக்குப் பெயர் **'ஏற்ற இறக்க சோதனை'** (fluctuation test) ஆகும். இச்சோதனை பாக்டீரியாவில் திடீர்மாற்ற வீதத்தைக் கண்டறிய உதவும் முக்கியமான ஒன்றாகும். ஒரு ஏற்ற இறக்க சோதனையில் 20 சிறிய வளர்ப்புகளில் 11-ல் மியூட்டன்ட்கள் எதுவும் காணப்படவில்லை என்று கொள்வோம். ஒரு வளர்ப்பின் 'N'-ல் சராசரி செல்கள் 5.6×10^8 என்று கொண்டால்,திடீர் மாற்ற வீதம்.

$$M = - (1/5.6 \times 10^8) \ln (11/20)$$

$$= 1.1 \times 10^{-9}$$ / செல் / இரட்டித்தல் ஆகும்.

திடீர் மாற்ற நிகழ்வெண்

திடீர் மாற்ற வீதத்தைத் தொடர்ந்து கண்டறிவதும் ஒரு செல் பிளத்தல் அல்லது ஒரு செல் தலைமுறையில் அதன் விகிதத்தை கண்டறிவதும் சிரமம் என்பதால் **திடீர் மாற்ற நிகழ்வெண்** கணக்கிடப்படுகிறது. இதில் ஒரு செல் இனக்கூட்டம் அல்லது உயிரிகளில் தோன்றும் மியூட்டன்ட்களின் எண்ணிக்கை அளவிடப்படுகிறது. படம் 13.10.ல் திடீர் மாற்ற வீதம் ஒரு செல் பிளவுக்கு 1/7 ஆகும். ஆனால் திடீர் மாற்ற நிகழ்வெண் ஒருசெல்லுக்கு 2/8 = ¼ ஆகும



செல் பிளத்தல்	செல்கள்
0	1
1	2
3	4
7 (n–1)	8 n

படம் 13.10 திடீர்மாற்ற நிகழ்வெண்

ஒரு செல் பிளத்தல் அல்லது DNA இரட்டித்தல் சுழற்சிக்கு திடீர்மாற்றவீதம் பாக்டீரியா மற்றும் பாக்டீரியோபேஜ் போன்றவைகளில் கணக்கிடப்பட்டுள்ளது. சில உதாரணங்கள் அட்டவணை 13.1.ல் தரப்பட்டுள்ளது.

ஒரு உயிரியில் வெவ்வேறு ஜீன்களின் திடீர்மாற்ற நிகழ்வெண்கள் மாறுபாடுகின்றன. சில ஜீன்கள் நிலையற்றது அல்லது எளிதாய் திடீர்மாற்றம் அடையக்கூடியது. இவை மற்றவற்றை விட அதிகமான திடீர்மாற்ற நிகழ்வெண்ணைக் கொண்டிருக்கும். அட்டவணை 13.2.ல் டுரோசோபிலா, மனிதன் போன்றவற்றின் திடீர்மாற்ற நிகழ்வெண் தரப்பட்டுள்ளது.

அட்டவணை 13.1. சில உயிரிகளில் திடீர் மாற்ற வீதம்

உயிரிகள்	திடீர்மாற்றம்	வீதம் (10^6 செல் பிளத்தலுக்கு)
1. பாக்டீரியோபேஜ்(T2)	லைசிஸ் தடுப்பு $r \rightarrow r+$	0.1
2. எ.கோலி	லாக்டோஸ் நொதித்தல் *லாக் → லாக் +*	0.2
	ஹிஸ்டிடின் தேவை *ஹிஸ்* → *ஹிஸ்*$^+$	0.4
3. மனிதனின் எலும்பு மஜ்ஜை திசுவளர்ப்பு	சாதாரணம்→அஸாகுவானைன் எதிர்ப்பு	700

அட்டவணை 13.2.

சில உயிரிகளின் குறிப்பிட்ட இடங்களில் திடீர்மாற்ற நிகழ்வெண்

உயிரியும் ஜீனும்		திடீர் மாற்ற நிகழ்வெண் (10^6 இன செல்லுக்கு)
டுரோசோபிலா மெலனோகாஸ்டர்	$W \rightarrow w$	40.0
சுண்டெலி	$D \rightarrow d$	30.0
மனிதன்		
ஹன்டிங்டன் கோரியா		1.0
எபிலோப்பியா		4-8
குட்டை தன்மை		40-120
ஹீமோபிலியா		20-40

தலைகீழ் திடீர் மாற்றம்
(Reverse Mutation)

ஏற்கனவே திடீர்மாற்றமடைந்த ஜீன் மீண்டும் திடீர் மாற்றமடைந்து, அந்த ஜீன் பழைய நிலையை அடைவதற்கு **தலைகீழ் திடீர்மாற்றம்** என்று பெயர். இதன் மூலம் அந்த ஜீன் ஒரு செயல்படும் புரதத்தை உற்பத்தி செய்யும். வேறொரு இடத்தில் நடக்கும் திடீர்மாற்றம் முதல் திடீர்மாற்றத்தின் விளைவை மறைப்பது அல்லது குறைப்பது என்ற நிகழ்வை விவரிக்கவும் தலைகீழ் திடீர்மாற்றம் என்ற பதம் பயன்படுத்தப்படுகிறது. பாக்டீரியாவில் **ஏம்ஸ் (Ames) சோதனை** மூலம் தலைகீழ் திடீர்மாற்றம் நடைபெறும் முறை விளக்கப்பட்டுள்ளது. டுரோசோபிலா போன்ற பல உயிரிகளில் தலைகீழ் திடீர்மாற்றம் இயற்கையிலேயே நடக்கிறது. அயனி கதிர்வீச்சுகள் இந்நிகழ்வுகளை தூண்டுவதாக நிருபிக்கப்பட்டுள்ளது.

இலக்கு-நோக்கு திடீர்மாற்றத் தூண்டுதல்கள்
(Site -Directed Mutagenesis)

இலக்கு-நோக்கு திடீர் மாற்றம் என்றால் என்ன?

குறிப்பிட்ட இடத்தில் திடீர் மாற்றங்களை (இலக்கு-நோக்கு திடீர்மாற்றத் தூண்டுதல்கள்) தூண்டுதல் என்பது ஜீன் அளவில் குறிப்பிட்ட மாற்றங்களை நிகழ்த்துவதாகும். இதன் விளைவாக புரதத்தின் குறிப்பிட்ட இடத்தில் காணப்படும் ஒரு குறிப்பிட்ட அமினோ அமிலத்தை நம் விருப்பத்திற்கு ஏற்ப மாற்றிவிடலாம். ஜீன் வரிசையில் ஒரு நியூக்ளியோடைடை மாற்றுவதன் மூலம் அமினோ அமில வரிசையை மாற்றலாம். அதன் விளைவாக உருவாகும் புரதத்தின் அமைப்பும் பணியும் மாறும். புரதத்தைக் குறிக்கும் DNA வரிசையில் எந்த மாற்றம் நிகழ்த்தப்பட வேண்டும் என்பதைத் தீர்மானித்துவிட்டால் நமக்குத் தேவையான புது DNA வரிசையை வேதியல் முறைமூலம் உருவாக்கி, பாலிமரேஸ் சங்கிலி வினை மூலம் (PCR) அவற்றைப் பெரிதாக்கி, மறு இணைவு மூலம் செல்களுக்குள் நுழைத்து அவற்றை வெளிப்படச் செய்யலாம். இதனால் உருவாகும் புதிதாக மாற்றப்பட்ட புரதங்களை நமக்குத் தேவையான அளவு அறுவடை செய்து கொள்ளலாம். இவ்வாறு நிகழ்த்தப்படும் மாற்றங்கள் மிகவும் குறிப்பாக செய்யப்பட வேண்டியதால். தேவைப்பட்ட இடங்களில் சரியாக மாற்றங்களை நிகழ்த்த தொழிட்நுட்பங்களை உருவாக்க வேண்டும். மேலும் சரியான திடீர் மாற்றங்களை அடையாளம் கண்டு பிரித்தெடுக்க வேண்டும். இலக்கு-நோக்கு திடீர்மாற்றத் தூண்டுதல்களில் ஆய்வைத் துவங்கி அவற்றிற்கான

தொழில்நுட்பங்களைக் கண்டுபிடித்து சிறப்பான முடிவுகளைப் பெற்ற கனடாவைச் சேர்ந்த மைக்கேல் ஸ்மித் (Michael Smith) 1993ல் அதற்காக நோபல் பரிசை வென்றார். இலக்கு நோக்கு திடீர் மாற்றத் தூண்டுதல் தொழில்நுட்பம் நொதி செயல்பாடு, புரத மடிப்புகள் மற்றும் நிலையான தன்மை ஆகியவற்றை அறிய உதவுவதால் எதிர்காலத்தில் புரத தொழில்நுட்பத்தில் பெரும் பங்காற்ற உள்ளது.

மூலக்கூறு உயிரியல் வல்லுநர்களுக்கு ஒரு ஜீனோமில் குறிப்பிட்ட இடங்களில் தீடீர் மாற்றத்தை ஏற்படுத்தும் தொழில்நுட்பம் மிகவும் மதிப்பு வாய்ந்ததாகும். இவ்வாறு ஜீனின் குறிப்பிட்ட இடங்களில் மாற்றத்தைத் தூண்டிவிட்டு அதன் மூலமாக இந்த ஜீனிலிருந்து வரும் மதிப்புள்ள பொருட்களை உற்பத்தி செய்யவைக்கலாம்.

இலக்கு-நோக்கு திடீர் மாற்ற தூண்டுதல் முறை

இம்முறையில் பொதுவாக நமக்குத் தேவையான DNA பகுதியையும் அத்துடன் சற்றே நீளமான DNA பகுதியையும் குளோன் செய்யவேண்டும். பின்பு அந்த DNAவை வெளியே எடுத்து அதைக் கொண்டு தீடீர் மாற்றங்களை ஏற்படுத்தலாம். இந்த மாற்றங்களை DNAவின் வெவ்வேறு பகுதிகளில் அங்கொன்றும் இங்கொன்றுமாய் செய்வதால், திடீர் மாற்றமடைந்த பல DNA மூலக்கூறுகள் கிடைக்கும். பின் இந்த DNA செல்களுக்குள் நுழைக்கப்பட்டு அவை செல்லினுள் எவ்வித மாற்றங்களை நிகழ்த்துகின்றன அல்லது எவ்வகையான பொருட்களை உற்பத்தி செய்கின்றன என்று அறியப்படுகிறது. பின்பு DNAயின் பகுதிகள் ஆராயப்பட்டு, குறிப்பிட்ட இடத்தில் திடீர் மாற்றம் நடந்துள்ளதா என்று கண்டுபிடிக்கப்பட்டு ஜீனின் ஒவ்வொரு பகுதிக்கும் என்ன பணி என்று கண்டறியப்படுகிறது.

குளோன் செய்யப்பட்ட DNA துண்டில் சிறு நீக்கம் அல்லது சேர்த்தல் ஆகியவற்றை செய்ய பல முறைகள் கையாளப்படுகின்றன. நீக்கம் செய்யப்பட வேண்டுமெனில் DNAவை குறிப்பிட்ட இடங்களிலோ அல்லது ஏதாவது சில இடங்களிலோ வெட்ட வேண்டும். பின் DNAவின் நுனிகள் சிறு பகுதியை நொதி மூலம் கரைத்து விடவேண்டும். இதனால் DNAவின் நுனிகள் மழுங்கி காணப்படும். பின்பு இவற்றை ஒன்றாக இணைத்து விடலாம். ஒன்றாக இணைந்தபின் DNAவின் சிறு பகுதி நீக்கப்பட்டிருக்கும். DNAவில் புதிய பகுதிகளை சேர்க்க வேண்டுமென்றால் முதலில் DNAவை சில இடங்களில் வெட்டி இரு நுனிகளிலும் இணைப்புகளை (linkers) ஒட்டி வைக்க வேண்டும். பின்பு இந்த இணைப்புகளை ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் நொதியின் உதவியால் ஒட்டும் (நீட்டிய) நுனிகளை உடையதாய் ஆக்கி விடவேண்டும். பின்பு இம்முனைகள் ஒட்டிக் கொள்ளும்.

இப்போது உருவான வட்டமான DNA மூலக்கூறில் உள்ள இணைப்புப்பகுதியில் புது நியூக்ளியோடைட்கள் காணப்படுகின்றன.

DNAவின் குறிப்பிட்ட இடங்களில் சிறு நீக்கல் அல்லது சேர்த்தல் ஆகியவற்றைச் செய்தாலும் அதன் விளைவுகள் தீவிரமாக இராது. ஆனால் உயிர்தொழில் நுட்ப வல்லுநர்கள் இம்மாதிரியான சிறு மாற்றங்கள் பெரிதும் பயன்தரும் என நம்புகின்றனர். ஏனெனில் புரதத்தில் உள்ள ஒரு அமினோ அமிலத்தை மாத்திரமே மாற்றி புரத்தின் தன்மையையே நம் தேவைக்கேற்ப மாற்ற இம்மாதிரியான சிறு மென்மையான மாற்றங்களால் முடியும். இம்மாதிரியான மாற்றங்களை நிகழ்த்த புள்ளி திடீர் மாற்றங்களை ஏற்படுத்துவது அவசியமாகிறது. புள்ளி திடீர் மாற்றத்தினால் ஜீனின் ஒரு குறிப்பிட்ட இடத்தில் ஒரே ஒரு நியூக்ளியோடைடை மாற்றமுடியும். புள்ளிதிடீர் மாற்றத்தின் மூலம் ஒரு ஜீனில் உள்ள ஒரு நியூக்ளியோடைடை நீக்கி விட்டு வேறொரு நியூக்ளியோடைடை புகுத்த வேண்டுமெனில் அந்தப்புள்ளி திடீர் மாற்றம் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் (வரையறுக்கப்பட்ட) இடத்திற்கு அருகாமையில் நடக்க வேண்டும் (அதாவது ஜீனில் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் எண்டோநியூக்ளியேஸ் நொதியால் தாக்கப்படும் இடம்). DNAவுடன் எதிடியம் புரோமைடை சேர்ந்தால் அது DNAவுடன் இணைகிறது. இப்போது ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதிகள் DNAவின் ஓரிழையை மட்டும் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் இடத்தில் வெட்டுகிறது. வெட்டப்பட்ட இடத்தை நன்கு திறந்து ஐந்து நியூக்ளியோடைட்கள் நீளத்திற்கு இடைவெளி உண்டாக்குமாறு செய்யப்படுகிறது. பின்பு நான்கு டி ஆக்ஸி ரிபோநியூக்ளியோடைடுகள் ட்ரைபாஸ்பேட்டுகளில் ஏதாவது ஒன்றை நீக்கி விட்டு இடைவெளி நிரப்பப்படுகிறது. இப்படிச் செய்வதால் இடைவெளியின் ஒரு இடத்தில் தவறான இணைவு ஏற்படுகிறது. இவ்வாறு மாற்றப்பட்ட DNA இரட்டித்தபின் அதிலிருந்து கிடைக்கும் பாதி மூலக்கூறுகள் திடீர் மாற்ற வகையாக இருக்கும்.

ஓலிகோ நியூக்ளியோடைட் தூண்டும் திடீர் மாற்றங்கள்

ஜீனின் புள்ளி திடீர் மாற்றங்களை தோற்றுவிக்கப் பயன்படும் மிக உபயோகமான சிறந்த முறை **'ஓலிகோ நியூக்ளியோடைட் தூண்டும் திடீர் மாற்றங்கள்'** (oligonucleotide-directed mutagenesis) ஆகும். ஒரு ஜீனின் நியூக்ளியோடைட் வரிசை நன்கு அறியப்பட்டிருந்தால் மாத்திரமே இந்த முறையைப் பயன்படுத்த முடியும். ஆனால் இயற்கையில் அனைத்து ஜீன்களின் நியூக்ளியோடைட் வரிசைகளும் நன்கு கண்டறியப்பட்டுள்ளன. இம்முறையில் கீழ்கண்ட நிலைகள் உள்ளன (படம் 13.11.).

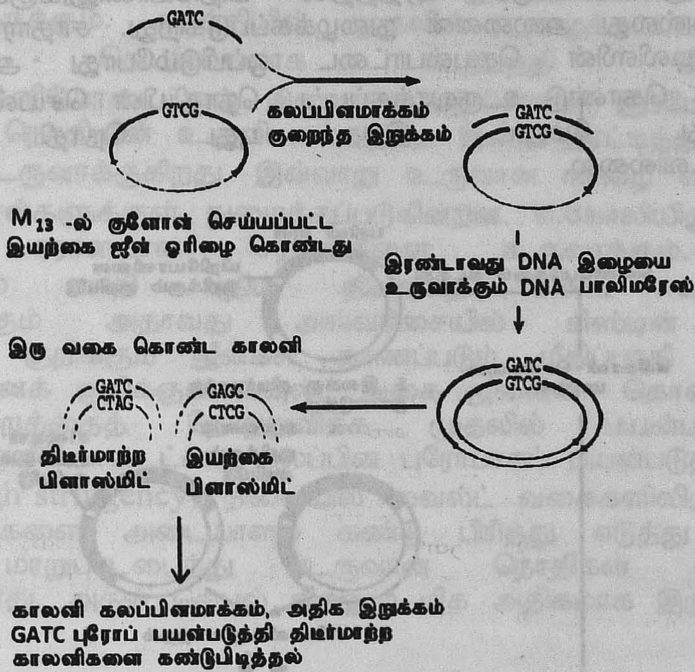
1. முதலில் எந்த பேஸ் மாற்றப்பட வேண்டும் என்று தீர்மானிக்கப்பட்டதோ, அந்த மாற்றப்படவேண்டிய நியூக்ளியோடைடை ஒத்த ஒரு ஓலிகோ நியூக்ளியேடைட் செயற்கையாக உற்பத்தி செய்யப்படுகிறது. இதன் நீளம் 15 முதல் 20 நியூக்ளியோடைட்களை கொண்டதாய் இருக்கும்.

2. இந்த நியூக்ளியோடைடை, வைல்ட் (இயற்கை) வகை ஜீனின் ஓரிழை குளோனுடன் கலப்பினமாக்கத்தில் ஈடுபட செய்யப்படுகிறது. இந்த ஜீன் M13 குளோன் அமைப்பில் உருவாக்கப்பட்டதால் ஓரிழையைக் கொண்டுள்ளது. இந்த கலப்பினமாக்க நிகழ்ச்சி குறைந்த வெப்பம், அதிக உப்பு அடர்த்தி கொண்ட ஊடகத்தில் நிகழ்த்தப்படுகிறது. ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட் இப்போது தம்மை பூர்த்தி செய்யும் பேஸ் வரிசையைக் கொண்ட வைல்ட் வகையுடன் இணைகிறது. பின்பு இந்த ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட் பகுதியை 'முன்னோடி' யாகப் பயன்படுத்தி DNA பாலிமரேஸ் நொதி ஈரிழை DNAவை உருவாக்குகிறது. இவ்வாறு உருவான DNAவின் ஈரிழையில் ஒரு இழை வைல்ட் வகையாகும். மற்றொரு இழை தேவைப்படும் புள்ளி திடீர் மாற்றங்களைக் கொண்ட திடீர் மாற்ற வகையாகும்.

3. பின்பு ஈரிழை DNA எ.கோலி பாக்டீரியாவுக்கு மாற்றப்படுகிறது. பாக்டீரியன்களில் DNA இரட்டித்தல் அடைந்து இரு வகைக் காலனிகளை உருவாக்குகிறது. ஒரு வகை காலனியில் உள்ள பாக்டீரியன்களில் திடீர் மாற்ற வகை ஈரிழை DNAயும் மற்றொரு வகை காலனியில் உள்ள பாக்டீரியன்களில் வைல்ட் வகை ஈரிழை DNAயும் காணப்படும்.

4. திடீர் மாற்ற வகை DNAவைக் கொண்ட பாக்டீரிய காலனிகளை அதிக வெப்பம் குறைந்த உப்புத்தன்மை கொண்ட ஊடகத்தில் 'காலனி கலப்பினமாக்க முறை' மூலம் அடையாளம் காணலாம். திடீர் மாற்றமடைந்த காலனிகளை அடையாளம் காண்பது எளிதாகும். காலனிகளை சிதைத்து DNAவை வெளியேற்ற வேண்டும். இந்த DNA நைட்ரோசெல்லுலோஸ் வடிதாளுடன் நன்கு ஒட்டிக் கொள்ளுமாறு செய்யப்பட வேண்டும். இவற்றை அதிக வெப்பம் குறைந்த உப்புத்தன்மை கொண்ட ஊடகத்தில் கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட்களுடன் கலப்பினமாக்கத்தில் ஈடுபடுத்த வேண்டும். திடீர் மாற்றமடைந்த DNA மாத்திரமே ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட் புரோபுடன் கலப்பினத்தில் ஈடுபடும். இவ்வாறு திடீர் மாற்றம் அடைந்த DNAவைக் கொண்ட காலனிகள் அடையாளம் காணப்பட்டு பிரித்தெடுக்கப்படுகின்றன.

5. இவ்வாறு பிரித்தெடுக்கப்பட்ட திடீர் மாற்ற காலனிகள் மேலும் வளர்த்தலுக்காக பயன்படுத்தப்படுகிறது. 'ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட்' தூண்டும் திடீர் மாற்றங்கள் முறை புரத தொழில் நுட்பத்தில் பெரும் பங்காற்ற முடியும். சாதரணமாக இயற்கையில் கிடைக்கும் நொதிகளை விட இம்முறை மூலம் தூண்டப்பட்டு உருவாகும் நொதிகள் சிறந்ததாக இருக்கும்.

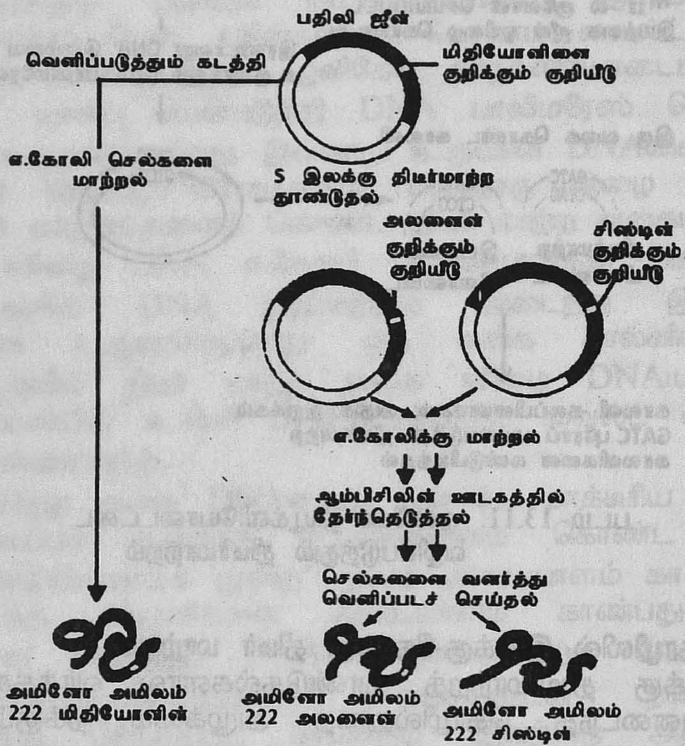


படம் 13.11. ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட்டை வழிப்படுத்தும் திடீர்மாற்றம்

டிடர்ஜன்ட் தொழிலில் இலக்கு-நோக்கு திடீர் மாற்றம்

இலக்கு நோக்கு திடீர்மாற்றத் தூண்டுதல்களால் வர்த்தக ரீதியாக பெரிதும் பயனடைந்த தொழில்துறை அழுக்கை நீக்கும் சலவை சோப்பு டிடர்ஜன்ட் துகள்கள் (detergents) ஆகியவற்றைத் தயாரிக்கும் தொழில் துறையாகும். இத்தொழில் நுட்பத்தின் மூலம் அதிகத் திறன் கொண்ட டிடர்ஜன்ட்கள் (அழுக்கு நீக்கிகள்) உற்பத்தி செய்யப்படுகின்றன. கறைபடிந்த துணிகளிலிருந்து புரதக் கறைகளை நீக்க புரதத்தைச் செரிக்கும் நொதிகள் டிடர்ஜன்ட்களில் சேர்க்கப்படுகின்றன. சமீப காலங்களில் மறுஇணைவு அடைந்த எ.கோலி பாக்டீரியாவில் உற்பத்தி செய்யப்பட்ட சப்டிலிஸின் (subtilisin) என்ற ஒரு சிரைன் புரட்டியேஸ் நொதி டிடர்ஜன்ட்களில் சேர்க்கப்படுகிறது. ஆனால் இதை ப்ளீச்சுடன் (வெண்மையாக்கும் சலவைப்பொடி) (bleach) சேர்த்துப் பயன்படுத்த முடியாது. ஏனெனில் ப்ளீச் சப்டிலிஸினை செயலிழக்கச் செய்துவிடுகிறது. இவ்வாறு அந்த நொதி செயல்படாமல் போனதற்குக் காரணம் அந்த நொதியின் 222வது இடத்தில் காணப்படும் மிதியோனின் அமினோ அமிலமாகும். மரபியல் மாற்றங்கள் மிதியோனினை வேறு அமினோ அமிலங்களால் மாற்றப்படுவதற்கு வகை செய்கிறது. இலக்கு நோக்கு திடீர்மாற்றத் தூண்டுதலைப் பயன்படுத்தி திடீர்மாறி ஜீன்களை உருவாக்கி, அதன்

மூலம் உருவாக்கப்படும் புரதத்தில் மிதியோனினுக்குப் பதிலாக சிஸ்டின் அல்லது அலனைன் நுழைக்கப்படுகிறது. சாதாரண வைல்ட் வகை சப்டிலிஸின் செயல்பாட்டை ஒப்பிடும்போது அலனைனைப் பதிலியாகக் கொண்டு உருவாக்கப்பட்ட நொதியின் செயல்திறன் 53% அதிகரித்தது. மேலும் இந்த புது நொதி ப்ளீச்சால் பாதிக்கப்படவில்லை.



படம் 13.12. இலக்கு நோக்கு திடீர்மாற்ற தூண்டுதல்

இலக்கு நோக்கு திடீர்மாற்றத் தூண்டுதல்களை கடத்திகளில் குளோன் செய்யப்பட்ட ஜீன்களில் நிகழ்த்தலாம் (படம் 13.12.). மிதியோனினைக் குறிக்கும் ஜீன் கொண்ட வைலட் வகை ஒரு ஓரிழை DNA நன்கு சுத்திகரிக்கப்பட்டு கடத்திக்குள் நுழைக்கப்படுகிறது. இந்த இழையின் ஒரு பகுதியைப்பூர்த்தி செய்யும் 12-15 ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட்கள் கொண்ட ஒரு சிறு இழை செயற்கையாக உற்பத்தி செய்யப்படுகிறது. அதாவது செயற்கையாக உற்பத்தி செய்யப்பட்ட சிறு இழை மிதியோனின் கொண்ட ஓரிழை DNAவின் பெரும் பகுதியைப் பூர்த்தி செய்யும் பேஸ்களைக் கெண்டிருந்தாலும், ஓரிரு பொருந்தாத பேஸ்களையும் கொண்டிருக்கும். அப்பகுதியில் சிஸ்டின் அல்லது அலனைக் குறிக்கும் ஜீன்கள் இருக்கும். இந்தப் பொருந்தாத பேஸ்கள்தான் தேவையான திடீர்மாற்ற வரிசைகளைத்

தரவல்லது. அப்பகுதியில் சிஸ்டின் அல்லது அலனனைக் குறிக்கும் ஜீன்கள் இருக்கும். கடத்தியில் முதலில் நுழைக்கப்பட்ட ஓரிழை DNAவுடன் செயற்கையாக உற்பத்தி செய்யப்பட்ட ஒலிகோநியூக்ளியோடைட்கள் இணைக்கப்படுகின்றன. இப்போது DNA பாலிமரேஸ் நொதியின் உதவியால் இந்த இழை இரட்டித்து மற்றொரு இழையை உருவாக்குகிறது. இவ்வாறு உருவான ஈரிழை வட்ட DNA எ.கோலி செல்களுக்குள் நுழைக்கப்படுகின்றன. எ.கோலியினுள் DNA இரட்டித்து ஏராளமான சந்ததிகளை உருவாக்கும். அப்படி உருவானதில் பாதி புதிய திடீர்மாறி DNA வரிசையைக் கொண்டிருக்கும் அதாவது அவ்வரிசையில் சிஸ்டின் அல்லது அலனனைக் குறிக்கும் ஜீன்கள் காணப்படும். மீதிப்பாதி சந்ததிகள் மிதியோனினைக் குறிக்கும் வைல்ட் வகை ஜீனைக் கொண்டிருக்கும். திடீர் மாற்றத்தைத் தோற்றுவிக்க முதலில் பயன்படுத்தப்பட்ட ஒலிகோநியூக்ளியோடைட்டை கலப்பின புரோபாகப் பயன்படுத்தி, அதிக இறுக்க (high stringency) நிலையில் வைல்ட் வகைகளிலிருந்து திடீர் மாறி வகைகளை அடையாளம் கண்டு பிரித்து எடுத்து விடலாம். இவ்வாறு மாறுபாடடைந்து உருவான நொதிகள் ப்ளீச்சாலும் பாதிக்கப்படாது. அதன் செயல் திறனும் மிக அதிகமாக இருக்கும்.

14. DNA பழுதடைதல் மற்றும் பழுது நீக்கத்தின் மூலக்கூறு நுட்பங்கள்
(Molecular Mechanism of DNA Damage and Repair)



மரபு வழி செய்திகளைக் கொண்டிருக்கும் DNAவானது செல்களில் இரட்டிப்படைந்து சேய் செல்களுக்குச் செல்லும். இரட்டித்தல் மிகவும் சரியாக நடைபெற்றாலும், சில சமயங்களில் இரட்டித்தலின் போது தவறு ஏற்பட்டு DNA பழுதடைய வாய்ப்பு உண்டு. இயற்கையாகவே செல்களுக்கு அவ்வாறு ஏற்படும் பழுதினை நீக்கும் திறன் உண்டு. மேலும் DNA, கதிர்வீச்சு மற்றும் வேதியப்பொருட்கள் போன்ற இயற்பிய, வேதிய மற்றும் சுற்றுப்புற காரணிகளின் தாக்குதலுக்கு உட்படுவதன் விளைவாக திடீர் மாற்றம் ஏற்படுகிறது. மனித ஜீனோமில் ஒரே ஒரு பேஸ் இணையில் எற்படும் மாறுபாட்டினால், அரிவாள் செல் இரத்த சோகை போன்ற மோசமான நோய்கள் ஏற்படும் வாய்ப்பு உள்ளது.

DNA பழுதின் வகைகள் (Types of DNA damages)

DNA பழுதினை பல வகைகளாகப் பிரிக்கலாம். அவையாவன:

I. ஒரு பேஸ் மாற்றம் -

பியூரின் நீக்கம் (டி-பியூரினேசன்) மற்றும் அமைன் நீக்கம் (டி-அமைனேசன்): டி-அமைனேசனால் சைட்டோசின் யுராசிலாகவும், அடினைனாகவும் மாறுபாடடைகிறது. டி-பியூரினேசனின் போது பியூரின் இழப்பு ஏற்படுகிறது. இவ்வாறு பியூரினற்ற இடங்களுக்கு APஇடங்கள் (AP sites) என்று பெயர் (படம் 14.1.).

II. இரு பேஸ் மாற்றம்

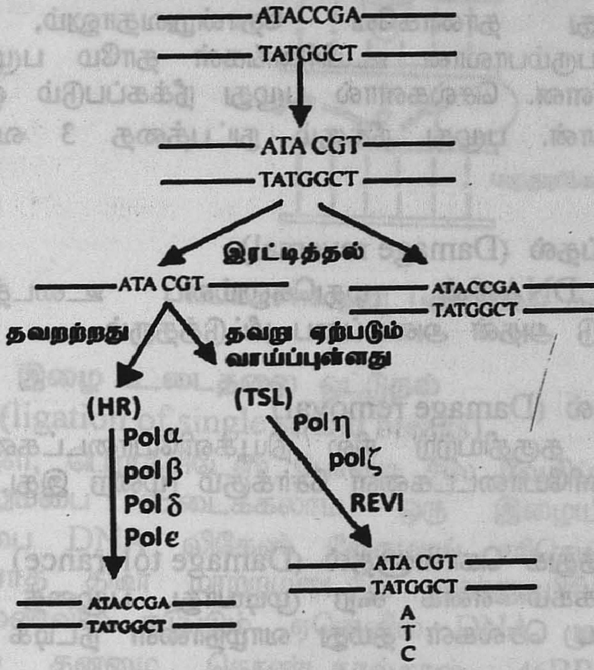
கதிர்வீச்சினால் DNA இழையில் அடுத்தடுத்து உள்ள பைரிமிடின்களுக்கிடையில் சக பிணைப்பு ஏற்பட்டு, பைரிமிடின் டைமர்கள் (இரட்டையர்கள்) உண்டாகின்றன.

III.DNA சங்கிலி உடைப்பு

X கதிர்கள் போன்ற கதிர்வீச்சுகளினால் DNA சங்கிலியில் உடைப்பு ஏற்படுகிறது.

IV. குறுக்கெதிர் பிணைப்பு

DNAவின் ஒரே இழையின் அல்லது எதிரெதிர் இழைகளின் பேஸ் மூலங்களுக்கிடையே குறுக்கெதிர் பிணைப்பு ஏற்படுவதாலும் DNA மற்றும் புரத மூலக்கூறுகளுக்கிடையே குறுக்கெதிர் பிணைப்பு ஏற்படுவதாலும், DNA பழுதடைகிறது.



படம் 14.1. AP இடங்கள், இரட்டித்தலுக்கும் முந்தைய பழுதுநீக்கம்

DNA பழுது நீக்கும் நுட்பங்கள் (DNA repair machanism)

செல்களில் இயற்கையாகவே பழுதடைந்த DNAவை சரிசெய்யும் அமைப்புகள் உள்ளன. இதனை யூகேரியோட்டுகளில் கீழ்க்கண்டவாறு நிரூபிக்கலாம். DNA ஆக்கம் தொடங்குவதற்கு முன்பான G_0 அல்லது G_1 நிலையிலுள்ள செல்களை பலவகை மியூட்டாஜன்களில் (திடீர்மாற்றத்தை தூண்டுபவை) வெளிப்படுத்தி, அதன்பின் ^{32}P தைமிடின் கொண்ட ஊடகத்தில் வைத்து, பின் தன்னக கதிர்வீச்சுக்கு உட்படுத்தி, S நிலைக்குச் செல்லாத செல்களை ஆராய்ந்து பார்க்கும்போது வடுக்குறி, நீக்கம் மற்றும் மியூட்டாஜன்களினால் ஏற்படும் குரோமோசோம் பிரட்சிகள் அதிகம் காணப்படவில்லை. மாறாக எல்லா குரோமோசோம்களிலும் பல இடங்களில் ^{32}P காணப்பட்டது. இதனால் வழக்கமான DNA ஆக்கம் நடைபெறாத சமயம் பல இடங்களில் DNA ஆக்கம் நடைபெற்றுள்ளது என்பது நிருபணமாகிறது. இது வழக்கத்திற்கு மாறான DNA ஆக்கம் என்று

அழைக்கப்படுகிறது. DNA பழுது நீக்கம் நடைபெறுகிறது என்பதற்கு இது ஒரு நிரூபணமாகும்.

DNA பழுது தானாகவே தோன்றுவதாலும், சுற்றுப்புற காரணிகளாலும் பெரும்பாலான உயிரினங்கள் தாமே பழுது நீக்கும் திறனைப் பெற்றுள்ளன. செல்களால் பழுது நீக்கப்படும் ஒரே பெரிய மூலக்கூறு DNAதான். பழுது நீக்கும் நுட்பத்தை 3 வகைகளாகப் பிரிக்கலாம்.

A. பழுதை சரிசெய்தல் (Damage reversal)

எளிய முறை: DNAவின் முதுகெலும்பை உடைத்துவிடாமல், நொதியின் செல்பாடு அதன் அமைப்பை மீட்டுத்தரும்.

B. பழுதை நீக்குதல் (Damage removal)

பழுதான அல்லது தகுதியற்ற சில நியூக்ளியோடைட்களை வெட்டி நீக்கி புதிய நியூக்ளியோடைட்களை சேர்க்கும் முறை இது.

C. பழுதை பொறுத்துக் கொள்ளுதல் (Damage tolerance)

இதைப் பழுது நீக்கம் எனக் கூற முடியாது. பழுதை பொறுத்துக் கொண்டு அப்படியே செல்கள் தமது வாழ்நாளை நீட்டிக் கொள்ளும் முறை இது.

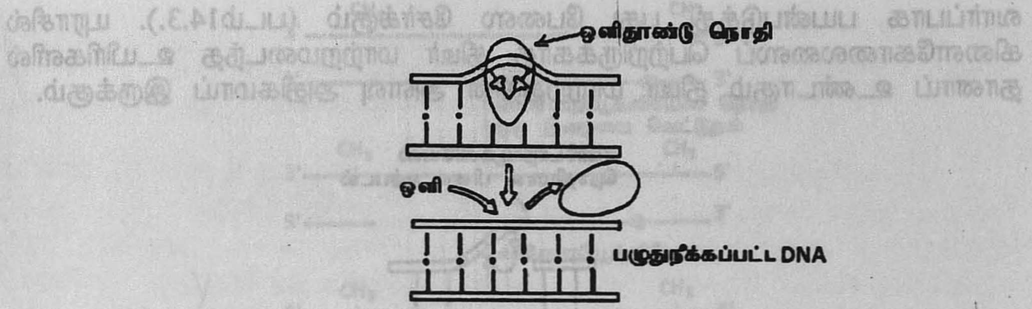
இப்போது ஒவ்வொன்றைப் பற்றியும் பார்க்கலாம்.

பழுதை சரி செய்தல்

1. ஒளி பழுது நீக்க மண்டலம் (Photo reactivation)

இது ஒரு மிக எளிய பழமையான பழுது நீக்க மண்டலமாகும். புற ஊதாக் கதிர்வீச்சின் விளைவினால் DNAயில் பொதுவாக பைரிமிடின் டைமர்கள் உண்டாகும். தைமின்-தைமின் (T-T) டைமர்கள் அதிக அளவில் உண்டாகிறது. T-T டைமர் கொண்ட பகுதி போட்டோலியேஸ் என்ற நொதியுடன் இணைந்து, ஒரு தொகுப்பாக ஆகிறது. **போட்டோலியேஸ்** நொதி ஒளியின் சக்தியை பயன்படுத்தி டைமரை மானோமராக மாற்றுகிறது (படம் 14.2.). இதற்கு **ஒளிபழுது நீக்க மண்டலம்** என்று பெயர்.

போட்டோலியேஸ் நொதி பல பாக்டீரியா, கீழ்மட்ட யூகேரியோட்டுகள், பூச்சிகள் மற்றும் தாவரங்களில் காணப்படுகிறது. மனிதன் போன்ற பாலூட்டிகளில் இவை இல்லை. இதற்கான ஜீன் பாலூட்டிகளில் இருந்தாலும் அது மற்றொரு வகை பழுது நீக்கத்திற்குத் தேவையான புரதத்தைக் குறிக்கிறது.



படம் 14.2.ஒளி பழுதுநீக்க மண்டலம்

2.ஒற்றை இழை உடைதலை ஒட்டுதல் (ligation of single strand breaks)

X கதிர்கள், பெராக்சிடேஸ் போன்ற சில வேதிப்பொருட்கள் DNAவின் முதுகெலும்பை உடைக்கலாம். ஒரு இழையில் ஏற்படும் எளிய உடைப்பை DNA லிகேஸ் வேகமாய் சரிசெய்துவிடும். லிகேஸைக் கொண்டிராத திடீர் மாற்றமடைந்த நுண்ணுயிரிகள் அதிக அளவில் மறு இணைவில் ஈடுபடும், ஏனெனில் DNA முனைகள் மறுஇணைவு அடையும் தன்மை கொண்டதால்தான். 46BR என்று மாத்திரமே குறியிடப்பட்ட ஒரு பெண் DNA லிகேஸ்I ஜீன் இரண்டிலுமே திடீர் மாற்றமடைந்து குறுகிய வளர்ச்சியுடன் நோய்தடைகாப்பு அற்று சூரிய ஒளியால் பாதிக்கப்படும் தன்மை கொண்டு இளம் வயதிலேயே இறந்து விட்டார். DNAவைத் தாக்கும் அயனி கதிர்வீச்சு போன்றவை 46BRன் பைப்ரோப்ளாஸ்ட் செல்களை எளிதில் பாதித்தன. மேலும் DNA லிகேஸ் நொதி இல்லாததால் **'ப்ளூம் சிண்ட்ரோம்'** (Bloom syndrome) என்ற நோயும் ஏற்பட்டது.

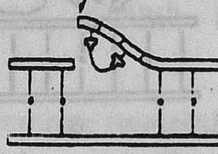
பழுது நீக்கம்

1. பேஸ் துண்டித்தல் பழுதுநீக்கம் (Base Excision Repair)

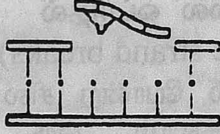
பழுதுபட்ட அல்லது பொருத்தமற்ற பேஸ்கள் அதன் சர்க்கரை இணைப்பிலிருந்து நீக்கப்பட்டு பதிலாக வேறொன்று சேர்க்கப்படும். கிளைகோசைலேஸ் நொதிகள் பேஸ்-சர்க்கரை இணைப்பை வெட்டுகின்றன. உதாரணமாக யுராசில் கிளைகோசைலேஸ் நொதி DNA யுராசிலை நீக்குகிறது. யுராசில் DNAவில் இருக்கக்கூடாது. DNA இரட்டித்தலின்போது RNA ப்ரைமர்கள் நீக்கப்படாமல், யுராசில் DNAவில் சேர்ந்து விட்டாலோ அல்லது சைட்டோசின் அமைன் நீக்கமடைந்தாலோ யுராசில் DNAவுடன் சேர்ந்துவிடும். இப்போது சர்க்கரை வெட்டப்பட்டு, DNA பாலிமரேஸ், மற்றொரு இழையை

வார்ப்பாக பயன்படுத்தி புது பேஸை சேர்க்கும் (படம்14.3.). யுராசில் கிளைகோலைஸைப் பெற்றிருக்காத திடீர் மாற்றமடைந்த உயிரிகளில் தானாய் உண்டாகும் திடீர் மாற்றத்தின் அளவு அதிகமாய் இருக்கும்.

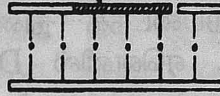
எண்டோநியூக்ளியேஸ்
நொதியால் பிளவு ஏற்படல்

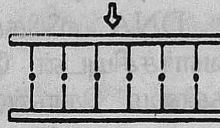


பழுதுபட்ட இழை நீக்கம்



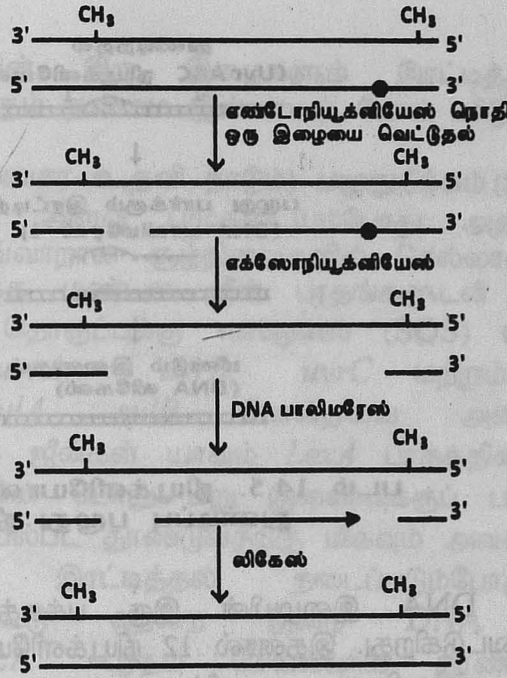
DNA உற்பத்தி
லிகேஸ்





படம் 14.3. துண்டித்தல்- ஆக்கம் பழுதுநீக்கம்

2. பொருந்தா இணை பழுது நீக்கம் (Mis-match repair) : சில சமயங்களில் DNA இரட்டித்தலின் போது தவறுகள் ஏற்படுகின்றன. உதாரணமாக அடினைனுக்கு எதிராக அமைய வேண்டிய தைமினுக்குப் பதிலாக சைட்டோசின் அமைகிறது. இவ்வித பொருத்தமில்லா ஒற்றை பேஸ் இணையினை பொருந்தா பழுது நீக்கம் சரி செய்கிறது (படம் 14.4.).



படம் 14.4. DNA பொருந்தா இணை பழுதுநீக்கம்

வார்ப்பு DNA இழையில் மீத்தைல் (CH_3) தொகுப்பு காணப்படும். ஆனால் புதிதாக உருவாகிய இழையில் மீத்தைல் தொகுப்பு கிடையாது. இந்த வித்தியாசத்தினால் புது இழைகளை அடையாளம் காணமுடியும். GATC எண்டோநியூக்ளியேஸ் நொதி இந்த இழையை வெட்டுகிறது. எக்சோநியூக்ளியேஸ் நொதியானது பழுதுபட்ட இழையை சிதைத்து நீக்குகிறது. அதற்குப் பதிலாக DNA பாலிமரேஸ் நொதி புது DNA இழையை உருவாக்குகிறது.

3. நியூக்ளியோடைட் துண்டிப்பு பழுதுநீக்கம் (Nucleotide excision repair)

DNAவில் பெரிய அளவில் பழுது ஏற்பட்டு, DNA இரட்டித்தல்,படிஎடுத்தல் ஆகியவற்றில் ஈடுபடாத நிலை ஏற்படும்போது இப்பழுது நீக்கம் நடைபெறும். இது ஒரு குறிப்பிட்ட அமைப்பை மாத்திரம் அடையாளம் காணாமல் இரட்டை திருகுசுழலில் ஏற்படும் நெகிழ்வை (distortion) அடையாளம் காண்கிறது.

துண்டித்தல்
(Uvr ABC நியூக்ளியேஸ்)





பழுது பார்க்கும் இரட்டித்தல்
(DNA பாலிமரேஸ் 1)





மீண்டும் இணைதல்
(DNA லிகேஸ்)



படம் 14.5. நியூக்ளியோடைட் துண்டிப்பு பழுது நீக்கம்

பழுதுபட்ட DNA இழையின் இரு பக்கத்தையும் UvrABC நியூக்ளியேஸ் வெட்டுகிறது. இதனால் 12 நியூக்ளியோடைட் நீளத்திற்கு இடைவெளி உண்டாகிறது. பாதிப்படையாத DNA இழையை பயன்படுத்தி DNA பாலிமரேஸ்I இடைவெளியை நிரப்புகிறது. இறுதியில் பழுதுபட்ட DNA இழையின் வெட்டுப்பகுதியை லிகேஸ் இணைக்கிறது (படம் 14.5.).

4. இரட்டித்தலுக்குப் பிந்தைய பழுது நீக்கம் (Post replicative repair)
இரட்டித்தலின்போது, DNAவின் அமைப்பில் பெரிய மாறுபாடு போன்ற தடைகளை சந்திக்க நேர்ந்தால், DNA-பாலிமரேஸ் III நொதி, அந்த தடைப்பகுதியைத் தாண்டி இரட்டித்தலைத் தொடரும். இறுதி நியூக்ளியோடைடில், டிரான்ஸ்பரேஸ் நொதி DNA இழையின் வளர்நுனியில் நியூக்ளியோடைட்களை சேர்த்து வார்ப்பு DNA இழையின் உதவியின்றி DNAவை நீளமடையச் செய்கிறது. இவ்வாறு சேர்க்கப்பட்ட பேஸ் மூலங்களில் பெரும்பாலானவை தவறான வைகளாகும். அவைகளில் சில எவ்வித பழுதுநீக்க முறைகளினாலும் சரி செய்ய முடியாதவைகளாக இருப்பதால், திடீர் மாற்ற தோற்றத்தை அளிக்கிறது. மேலும் அவை மரபியல் பொருட்களை இரட்டித்தல் செய்வதால் இரட்டித்தலுக்குப் பிந்தைய தவறு பழுது நீக்கம் என அழைக்கப்படுகிறது.

புற ஊதாக்கதிர்கள், அயனி கதிரியக்கம், பல மியூட்டாஜன்கள் மற்றும் கார்சினோஜன்கள் (புற்று நோயைத் தூண்டுபவை), போன்றவை மேற்கண்ட தவறான பழுதுநீக்கத்தைத் தூண்டும் காரணிகளாகும்.

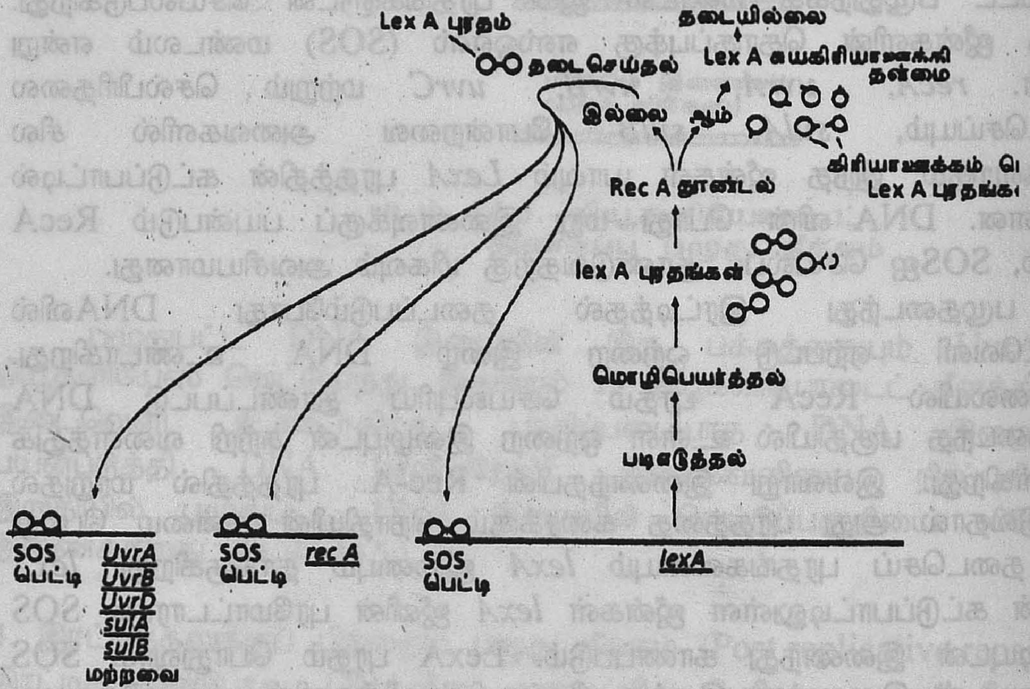
இதனால் DNAவின் இரு இழைகளும் இரட்டித்தலுக்கு மாதிரி இழைகளாக இருக்கும் தன்மை இல்லாமல் போய் விடுகிறது.

5. எஸ் ஓ எஸ் (அவசர உதவி நாடும்) பழுதுநீக்கம் (SOS Repair)

DNA மிக அதிக அளவு பழுதடையும்போது அதன் இரட்டித்தல் தடைபடுகிறது. அவ்வாறான சூழ்நிலைகளில் செல்லானது ஒன்றுக்கும் மேற்பட்ட பழுதுநீக்க மண்டல ஜீன் புரதங்களுடன் செயல்படுகிறது. அந்த ஜீன்களின் தொகுப்புக்கு எஸ்ஓஎஸ் (SOS) மண்டலம் என்று பெயர். *recA*, *uvrA*, *uvrB*, *uvrC* மற்றும் செல்பிரிதலை தடைசெய்யும், *sulA*, *sulB* போன்றவை அவைகளில் சில ஜீன்களாகும். இந்த ஜீன்கள் யாவும் *LexA* புரதத்தின் கட்டுப்பாட்டில் உள்ளன. DNA வின் பொது மறு இணைவுக்குப் பயன்படும் RecA புரதம், SOSஐ செயல்பட தூண்டுவதற்கு மிகவும் அவசியமானது.

பழுதடைந்து இரட்டித்தல் தடைப்படும்போது DNAவில் இடைவெளி ஏற்பட்டு ஒற்றை இழை DNA உண்டாகிறது. இந்நிலையில் RecA புரதம் செயல்புரிய தூண்டப்பட்டு DNA பழுதடைந்த பகுதியில் உள்ள ஒற்றை இழையுடன் சுற்றி வளைத்துக் கொள்கிறது. இவ்வாறு இணைந்தபின் Rec-A புரதத்தில் மாறுதல் ஏற்படுவதால் அது புரதத்தை கரைக்கும் நொதியின் தன்மை பெற்று பல தடைசெய் புரதங்களையும் *lexA* ஜீனையும் தாக்குகிறது. *lexA* ஜீனின் கட்டுப்பாட்டிலுள்ள ஜீன்கள் *lexA* ஜீனின் புரமோட்டாரான SOS பெட்டியுடன் இணைந்து காணப்படும். LexA புரதம் பொதுவாக SOS பெட்டியுடன் இணைந்து இருந்து மேற்கூரிய ஜீன்களின் படி எடுத்தலை தடைசெய்யும். பழுதுபட்ட DNAவின் ஒற்றை இழை பகுதியால் செயல்புரியத் தூண்டப்படும் RecA புரதம் LexA புரதத்துடன் வினைபுரிந்து LexA புரதத்தின் கிரியாஊக்கி தன்மையைத் தூண்டுகிறது (படம் 14.6). இதனால் *lexA* ஜீனின் கட்டுபாட்டில் இருக்கும் SOS பெட்டி கொண்ட அனைத்து ஜீன்களிலும் படி எடுத்தல் தொடங்கி mRNA புரதங்கள் வெளிப்படுகின்றன. *sulA* மற்றும் *sulB* ஜீன்களின் புரதங்கள் செல்லின் DNA பழுது நீக்கத்திற்கு எடுத்துக்கொள்ளப்படும் நேரத்தை அதிகரிக்கிறது. மேலும் RecA, DNA பாலிமரேஸ்III நொதியின், எண்டோநியூக்ளியேஸ் செயலையும் கட்டுப்படுத்துகிறது. DNA இழை நீட்சி அடைகிறது. DNA பழுது நீக்கப்படுகிறது. ஆகவே, தற்போது Rec-Aவை செயல்பட தூண்டும் ஒற்றை இழை DNA இல்லாததால் ReeA, DNAவிலிருந்து விடுவிக்கப்பட்டு அதன் புரதம் கிரியாஊக்கி தன்மையை இழந்துவிடுகிறது. ஆகவே lexA இதனால் பாதிக்கப்படாது. அது மறுபடியும் SOS ஜீன்களின் ஆபரேட்டர்களுடன் இணைந்து

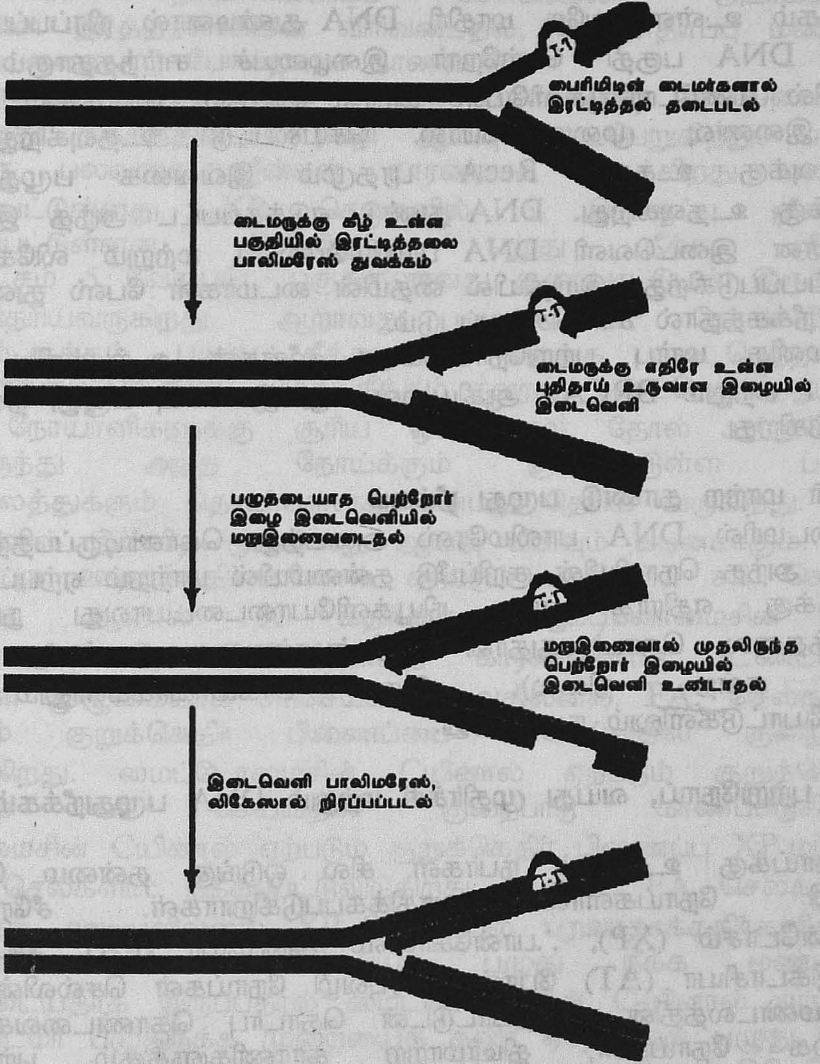
அவைகளின் வெளிப்பாட்டை தடைசெய்கிறது. DNA வின் பழுதுநீக்கம் முடிந்தபின் SOS மண்டலத்தின் செயலும் முடிந்து விடுகிறது.



படம் 14.6. SOS பழுதுநீக்கம்

DNA பழுதை பொறுத்துக் கொள்ளுதல் (DNA damage tolerance)

அனைத்து பழுதுகளும் உடனடியாக நீக்கப்படுவதில்லை. சில சிலகாலம் அப்படியே இருக்கும். பைரிமிடின் டைமர் போன்ற DNA பழுது ஏற்பட்டால் அது பொதுவாய் மேலும் இரட்டித்தல் நடைபெறா வண்ணம் இரட்டித்தல் நகராதவாறு தடையாக மாறும். இருந்த போதிலும் சில யூகேரியோட்டுகளில் பல இடங்களில் DNA இரட்டித்தல் நடைபெறுமாதலால் டைமர் பகுதியின் கீழாக இரட்டிக்கப்படாத ஒரு ஒற்றை இழை DNA "இடைவெளியை" விட்டு விட்டு இரட்டித்தல் தொடரும். செல் பிரிதலில் ஈடுபட்டால் இந்த "இடைவெளி" டைமர் போன்றே ஆபத்தைத் தரும் பகுதியாகிவிடும். ஆகவே இந்த இடைவெளி அமைப்பொத்த மறு இணைவின் மூலமாகவோ அல்லது சகோதரி குரோமாட்டிட்டினாலோ பழுது பார்க்கப்படும். இதன் காரணமாக உருவாகும் இரண்டு மூலக்கூறுகளில் ஒன்றில் இன்னும் டைமர் காணப்படும்.



படம் 14.7. மறு இணைவு பழுதுநீக்கம்

1. மறு இணைவு பழுது நீக்கம் (Recombinational Repair)

இம்முறையினால் DNA இரட்டித்தலுக்கு உதவும் நொதிகளின் பாதையில் தடை ஏற்படுவதால் உண்டாகும் இடைவெளியை நிரப்பலாம். உதாரணமாக DNA பாலிமரேஸ்III நொதி DNA இரட்டித்தலின்போது ஒரு தைமிடின் டைமரை அடைய நேரிட்டு அது சமயம் ஒளி இருள் பழுது நீக்கத்திற்கு உடனடியாக வர இயலாமல் உள்ள நிலையில், DNA பாலிமரேஸ்III நொதி, ஒரு இடைவெளிவிட்டு டைமரைத் தூண்டி புது இழை ஆக்கத்தைத் தொடரும் (படம் 14.7.).

புது இழையில் உண்டான இடைவெளி, இரட்டித்தல் பிளவின் மறுபக்கம் உள்ள அதே மாதிரி DNA துண்டினால் நிரப்பப்படுகிறது. அந்த DNA பகுதி பெற்றோர் இழையைச் சார்ந்ததாகும். இநத செயலில் எண்டோநியூக்ளியேஸ் மற்றும் லிகேஸ் நொதிகள், DNA மறு இணைவு முறை போல செயல்பட்டு உதவுகிறது. மறு இணைவுக்கு உதவும் RecA புரதமும் இவ்வகை பழுது நீக்க முறைக்கு உதவுகிறது. DNA துண்டு எடுக்கப்பட்ட அந்த இழையில் உண்டான இடைவெளி DNA பாலிமரேஸ் I மற்றும் லிகேஸினால் சரிசெய்யப்படுகிறது. இறுதியில் தைமின் டைமர்கள் பேஸ் துண்டித்தல் பழுது நீக்கத்தால் சரி செய்யப்படும்.

மனித மார்பு புற்றுநோய்க்கான ஜீன்கள் உற்பத்தி செய்யும் BRCA1 மற்றும் BRCA2 ஆகியவை மறு இணைவு பழுது நீக்கத்தில் பங்கேற்கிறது.

2. திடீர் மாற்ற தூண்டு பழுது நீக்கம்

ஒரு டைமரில் DNA பாலிமரேஸ் அடைத்து கொண்டிருப்பதற்கு ஒரு மாற்று, அந்த நொதியின் குறிப்பீடு தன்மையில் மாற்றம் ஏற்பட்டு, அது டைமருக்கு எதிராக எந்த நியூக்ளியோடைடையாவது நுழைத்து, இரட்டித்தலை தொடர்வதுதான் ("திடீர்மாற்றமடை அல்லது இறந்து போ" என்ற நிலை). இது பாக்டீரியாக்களிலும் சில யூகேரியோட்டுகளிலும் நடக்கிறது.

புற்றுநோய், வயது முதிர்ச்சி மற்றும் DNA பழுதுநீக்கம்

புற்றுநோய்க்கு உட்படும் நபர்கள் சில ஒடுங்கு தன்மை கொண்ட மரபுவழி நோய்களால் பாதிக்கப்படுகிறார்கள். சீரோடெர்மா பிக்மென்டோசம் (XP), ∴பான்கோனீஸ் அனிமியா (FA), அடாக்சியா டீலன்ஜிக்டாசியா (AT) போன்ற மரபுவழி நோய்கள் செல்லின் பழுது நீக்க மண்டலத்தின் குறைபாட்டுடன் தொடர்பு கொண்டவைகளாகும். இவ்வகை நோய்கள், திடீர்மாற்ற காரணிகளுக்கும் புற்றுநோய் காரணிகளுக்கும் இடையேயுள்ள தொடர்பின் நேரடி அறிகுறிகளாகும். மேற்கண்ட நோய்கள் ஒவ்வொன்றும், ஒவ்வொரு தனித்தனி பழுது நீக்க குறைபாட்டின் விளைவினால் வருபவையாகும்.

XP நோயாளிகளின் தோல், ஒளிக்கு மிகவும் உணர்ச்சி வசப்படக்கூடியது. FA நோயாளிகளின் இரத்தம் மற்றும் எலும்புகள் அசாதாரண அமைப்புடையவை. இதனால் அதிக அளவு இரத்தப்போக்கு ஏற்பட்டு இறப்பு நேரிடலாம். FA ஒவ்வா கருமுட்டை தன்மை கொண்டவர்கள் (ஹெட்டிரோசைகோட்டுகள்) அதிகம் உள்ளனர். அவர்களிடம் இந்நோய்க்கான அறிகுறிகள் காணப்படாது. ஆனால் அவர்களைக் கொண்டு திடீர் மாற்றம், புற்று நோய் மற்றும்

இறப்பு உண்டாக்கும் காரணிகளின் மூலக்கூறு இயக்கத்தை கண்டறிய முடியும். AT நோயாளிகளிடம் செரிபெல்லார் அடாக்சியா, கண்ணிலுள்ள இரத்தநாளங்கள் விரிவடைதல், நோய்எதிர்ப்பு மண்டல அமைப்பில் குறைபாடு போன்றவை காணப்படும்.

பாலூட்டிகளில் மேற்கூறிய மரபுவழி நோய்களின் அடிப்படையில் DNA பழுது நீக்கத்தின் மரபுவழி ஆய்வு நடைபெறுகிறது. பழுது நீக்கத்திற்கு பலவகை ஜீன்கள் காரணமாக இருக்கிறது என்பது கண்டறியப்பட்டுள்ளது. XP செல்களில் 5 தொகுப்பு ஜீன்கள் கண்டறியப்பட்டுள்ளன. இதிலிருந்து பழுது நீக்க ஜீனில் குறைந்தபட்சம் 5 வேறுபட்ட பகுதிகளாவது குறைபாட்டுடன் இருக்கும் என்று தெரியவருகிறது. ஆறாவது வகை XP நோயாளியில் துண்டித்தல்-ஆக்கம் பழுது நீக்கமுறை சரியாக நடைபெற்றாலும் இரட்டித்தலுக்குப் பிந்தைய பழுது நீக்கம் தவறாக நடைபெறுகிறது.

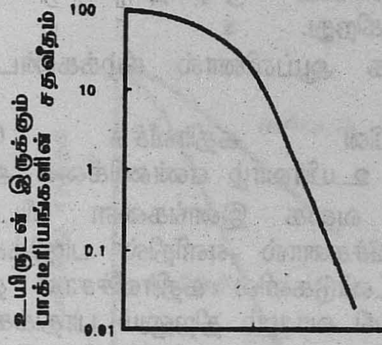
XP நோயாளிகளுக்கு சூரிய ஒளியினால் தோல் புற்றுநோய் வருவதிலிருந்து அந்த நோய்க்கும் குறைபாடுள்ள பழுது நீக்கமண்டலத்துக்கும் தொடர்புள்ளது என்பது தெரிய வருகிறது. AT நோயாளிகளில் இவ்வித மூலக்கூறு ஆய்வு மிகவும் கடினமாகும். AT செல்கள் புற ஊதாக்கதிர்களினால் ஏற்படும் பாதிப்பை சரி செய்து விடுகின்றன. ஆனால் X கதிர்கள், ஆக்டினோமைசின் D, மைட்டோமைசின் C, MMS போன்ற காரணிகளால் உண்டாகும் காயங்களை முழுமையாக சரிசெய்ய முடிவதில்லை. FA, செல்களில் காணப்படும் குறுக்கெதிர் பிணைப்பை சரிசெய்வதில் குறைபாடு காணப்படுகிறது. மைட்டோமைசின் Cயினால் ஏற்படும் குறுக்கெதிர் பிணைப்பை சரி செய்வதில் குறைபாடு காணப்படுகிறது. மைட்டோமைசின் Cயினால் ஏற்படும் குறுக்கெதிர் பிணைப்பு XP மற்றும் சாதாரண செல்களில் நீக்கப்பட்டுவிடுகிறது. ஆனால், FA செல்களால் அதை நீக்க முடியவில்லை. XP செல்களில் புறஊதாக்கதிர்களினால் உண்டாகும் பாதிப்பை சரிசெய்யும் பழுது நீக்க மண்டலம் குறைபாடுடையதாக இருப்பதால் மைட்டோமைசின் C-யினால் ஏற்படும் பாதிப்பு டைமர் பழுதுநீக்க முறையைத் தவிர ஏதோ ஒரு பழுது நீக்க முறையினால் சரிசெய்யப்படுகிறது என்று தெரிய வருகிறது. இதேபோல மனிதனில் கெராடினிடிஸ் என்ற புற்று நோயும் பழுது நீக்க மண்டல குறைபாட்டுடன் தொடர்பு கொண்டுள்ளதாக கண்டறிப்பட்டுள்ளது.

உயிரியலில் தற்போது மிகவும் முக்கிய பிரிவுகளில் ஒன்று முதுமையடைதல் (senescence) ஆகும். செல்களில் காணப்படும் தவறான பழுது நீக்க இயக்கங்கள் வயது முதிர்வுக்கு முக்கிய காரணமாக இருக்கலாம் என்று கருதப்படுகிறது. புற்றுநோய், முதுமையடைதல் மற்றும் DNA பழுது நீக்கம் தொடர்பான ஆய்வுக்கு எலிசபத் ப்ளாக்பர்ன், கரோல் கிரீடர் மற்றும் ஜேக் ஜோஸ்டாக் (Elizabeth Blackburn, Carol W.Greider, Jack W.Szostak) ஆகிய

மூன்று அறிவியலாளர்களுக்கு மருத்துவத்திற்கான 2009ம் ஆண்டு நோபல் பரிசு வழங்கப்பட்டுள்ளது. மேலும் இதற்காக அவர்கள் அமெரிக்காவின் 2006-ம் ஆண்டின் லஸ்கர் பரிசும் ஏற்கனவே பெற்றுள்ளனர்.

DNA பழுதினைச் சுட்டிக்காட்டும் உயிரியல் குறிப்புகள் (Biological indications of damage to DNA)

பாக்டீரியன்கள் கதிர்வீச்சுக்கோ அல்லது பல்வேறு வேதிப்பொருட்களுக்கோ உட்படுத்தப்படும் பொழுது காலனிகள் உண்டாக்கும் திறனை இழந்து விடுகின்றன. அதே போல பேஜ்கள் ப்ளேக் (plaque) உண்டாக்கும் திறனை இழந்துவிடுகின்றன. உபயோகப்படுத்தப்பட்ட கதிர்வீச்சு அல்லது வேதிப்பொருட்களின் அளவையும் அதனை எதிர்த்து உயிருடன் இருக்கும் ஆரம்ப இனக்கூட்டத்தின் ஒரு சிறு பகுதியையும் கொண்டு தயாரிக்கும் வரைபடத்தின் மூலம் உயிரிழப்பு அளவைக் கணக்கிடலாம். இது சம்மந்தமான அதிகமான ஆய்வுகள் கதிர்வீச்சின் அளவினை சார்ந்துள்ளன. இவ்வாறு குறிப்பிட்ட அளவைச் சார்ந்த எதிர்ச்செயலை விளக்கும் வரைபடத்திற்கு தொடர்வாழ் (Survival) வரைபடம் என்றுபெயர். உதாரணமாக பாக்டீரியன்களில் அவ்வித வரைபடங்கள் கீழ்கண்டவாறு பெறப்படுகின்றன. புறஊதாக்கதிர் அல்லது Xகதிர்வீச்சினால் தாக்குதலுக்கு உட்படுத்தப்பட்ட பாக்டீரியன்களின் இனக்கூட்டத்திலிருந்து, மாதிரிகள் குறிப்பிட்ட இடைவெளிவிட்டு எடுக்கப்படும். பின் அந்த மாதிரிகளை அகார் ஊட்டச்சத்து ஊடகத்தில் இட்டு அதில் உருவாகும் காலனிகளின் எண்ணிக்கை கணக்கிடப்படும். ஆரம்ப நிலையில் இருந்த பாக்டீரிய செல்களில் கதிர்வீச்சின் தாக்கத்திற்குப் பின்பு காலனி உருவாக்கும் தன்மை கொண்ட செல்களின் அளவு மற்றும் கதிர்வீச்சின் அளவு கொண்டு வரைபடம் தயாரிக்கப்படுகிறது (படம் 14.8.).



படம் 14.8. ஒரு பாக்டீரியத்தின் புறஊதா ஒளி தொடர்வாழ் வளைவு

ஆரம்ப நிலையில் வளைவானது தட்டையாக இருக்கிறது. ஏனெனில், இந்நிலையில் பாதிக்கப்பட்ட பாக்டீரியன்கள் இறப்பதில்லை. இதிலிருந்து பாக்டீரிய செல்லை அழிக்க அநேக கொல்லி பாதிப்புகள் (ஹிட்டுகள்) தேவைப்படுகின்றன அல்லது குறைந்த அளவு கதிர்வீச்சின் போது ஏற்படும் பழுதுகள் அதிக அளவு சரிசெய்யப்பட்டு விடுகிறது என்று தெரிய வருகிறது. பாஜ்களுக்கு இவ்வித வரைபடம் தயாரிக்க கதிர்வீச்சுக்கு உட்படுத்தப்பட்ட பாஜ்கள் பாக்டீரியன்களின் புறப்பரப்பில் விடப்படும். இதனால் பாக்டீரியன்களில் ப்ளேக் உண்டாகும்.

தொடர்வாழ் வரைபட வளைவுகளினால் கதிர்வீச்சின் பலவித பாதிப்பு முறைகள் மற்றும் சுற்றுப்புற காரணிகளால் DNAவுக்கு ஏற்படும் பழுது சரிசெய்யப்படுகிறது என்றும் தெரிய வருகிறது. **பாதிப்பு தாக்க கோட்பாடு** (ஹிட் கோட்பாடு-hit theory) என்ற எளிய கணக்கியல் கோட்பாடு, தொடர்வாழ் வளைவுகளை ஆராய்வதற்குப் பயன்படுகிறது.

DNA பழுது நீக்கத்தை சுட்டிக் காட்டும் உயிரியல் குறிப்புகள் (Biological indications of DNA repair)

புற ஊதாக்கதிர் தொடர்வாழ் வரைபடத்தின் தொடர்வாழ் வளைவுகளில் அதிக அளவு புறஊதாக்கதிர் தாக்கத்தின் போது கூட நேரான, நீளமான பகுதிகள் காணப்படவில்லை. வளைவானது தொடர்ந்து கீழ்நோக்கி வளைகிறது. இதிலிருந்து புறஊதாக்கதிரினால் DNAவுக்கு ஏற்பட்ட பழுது நீக்கப்பட்டுள்ளது என்பது தெரிய வருகிறது. அதாவது வலுவான பழுது நீக்கம் நிகழும் போது குறைந்த அளவு புறஊதாக்கதிர்களால் பாக்டீரியா அல்லது பாஜ்களை அழிக்க முடியாது. ஆனால் புறஊதாக்கதிரின் அளவு அதிகரிக்குபோது இவ்வித

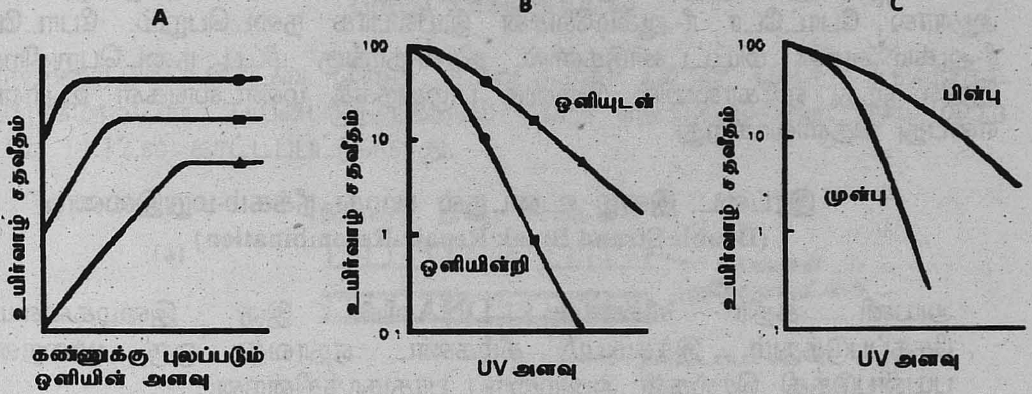
பாதிப்புகளை சரி செய்ய முடிவதில்லை அல்லது பழுதுநீக்க மண்டலமே பாதிப்படைகிறது.

DNA பழுதுநீக்க ஆய்வினால் கீழ்க்கண்ட இரு உண்மைகள் கண்டறியப்பட்டுள்ளன.

1. சிலவகை பின் கதிர்வீச்சு செயல்முறைகளினால் பாக்டீரியன்களின் உயிர்வாழ் எண்ணிக்கை அதிகரிக்கிறது.
2. வைல்ட் (wild) வகை இனங்களை விட திடீர்மாற்ற வகை இனங்கள் கதிர்வீச்சுனால் எளிதில் பாதிக்கப்படுகிறது. மேலும், பாக்டீரிய மியூடட்ண்டுகளில் கதிர்வீச்சால் தாக்கப்பட்ட பாஜ்கள் ப்ளேக் உண்டாக்கி வாழும் திறனும் பாதிக்கப்படும்.

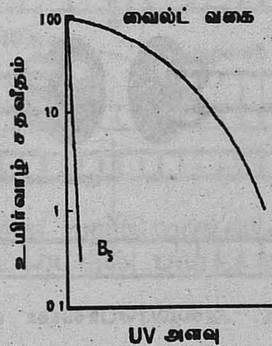
உயிர்வாழ் அளவில் பின் கதிர்வீச்சு செயல்முறைகளின் விளைவுகள் (Post-irradiation effects on survival levels)

காலனி உருவாவதற்கு முன்பு பாக்டீரிய செல்களை ஜன்னலில் சூரிய ஒளி படும்படி வைத்ததன் விளைவாக கதிர்வீச்சினால் ஏற்பட்ட பாதிப்பு நீக்கப்பட்டது என கண்டறியப்பட்டது. இதனை போட்டோ ரீஆக்டிவேசன் (photo reactivation) ஆய்வின் மூலம் நிருபிக்கலாம் (படம் 14.9.). வரைபடம் A கண்ணுக்குப் புலப்படும் ஒளி செல்களின் உயிர்வாழ் தன்மையை அதிகரிப்பதை காட்டுகிறது. உயிர்வாழ் அளவானது புறஊதாக் கதிர்களின் அளவைப் பொறுத்து இருக்கும். வரைபடம் B-யில் வரைபடம் A-யில் உள்ள செய்திக்குறிப்புகள் இரண்டு உயிர்வாழ் வளைவுகளாகக் காணப்படுகின்றன. அவைகளில் ஒன்று கண்ணுக்குப் புலப்படும் ஒளிக்கு உட்படுத்தப்பட்டது. மற்றொன்று அவ்வொளிக்கு உட்படுத்தப்படாதது. இந்த இருவளைவுகளும் கண்ணுக்குப் புலப்படும் ஒளியானது புறஊதா ஒளியினால் ஏற்படும் பாதிப்பில் ஒரு பகுதியை நீக்குகிறது என்பதை தெளிவாகக் காட்டுகின்றன. போட்டோ ரீ-ஆக்டிவேசன் என்பது ஒரு நொதியின் செயல் என்று உயிர் வேதியல் ஆய்வுகள் மூலம் நாம் அறியலாம். இவ்வினையின் போது போட்டோலையேஸ் என்ற நொதி டைமர்களை துண்டித்து மானோமரிக் நிலைக்கு மறுபடியும் மாற்றி அமைகிறது. இதற்கு ஒளியை பயன்படுத்திக் கொள்கிறது. ஒளிக்கு உட்படுத்தப்படாதபோது இந்த நொதியால் செயல்பட முடியாது. மியூட்டண்டுகளில் போட்டோலையேஸ் நொதி இல்லாததால் போட்டோ ரீ-ஆக்டிவேசன் நடைபெறாது.



படம் 14.9. உயிர்வாழ் அளவில் கதிர்வீச்சுகளின் விளைவு

'திரவ -தாங்கு மீட்பு' என்ற மற்றொரு பழுது நீக்க மண்டலம் பாக்டீரிய செல்களில் காணப்படுகிறது. வளர்ப்பு ஊடகத்தில் இடுவதற்கு முன்பு புறஊதாக்கதிர்களால் தாக்கப்பட்ட செல்கள் ஊட்டச்சத்து இல்லா தாங்கு கரைசலில் பல மணிநேரங்கள் வைக்கப்படும் போது (வரைபடம் C) குறிப்பிட்ட அளவு புறஊதாக்கதிர்களுக்கு எதிராக உயிர்வாழும் பாக்டீரிய செல்களின் எண்ணிக்கை அதிகரிக்கிறது. திரவ-தாங்கு மீட்பு எந்த ஒரு ஒளியின் உதவியின்றி நடப்பதால் எ-கோலியில் இரு வேறுபட்ட, ஒளி சார்ந்த (போட்டோ ரீ-ஆக்டிவேசன்) மற்றும் ஒளி சாரா பழுது நீக்க மண்டலங்கள் உள்ளன என்பது தெரிய வருகிறது. இதனை கீழ்க்கண்டவாறு நிருபிக்கலாம்.



படம் 14.10. UV அதிக உணர்வு கொண்ட மியூடண்ட் எ.கோலி B_s பாக்டீரியத்தின் தொடர்வாழ் வாழ்க்கை

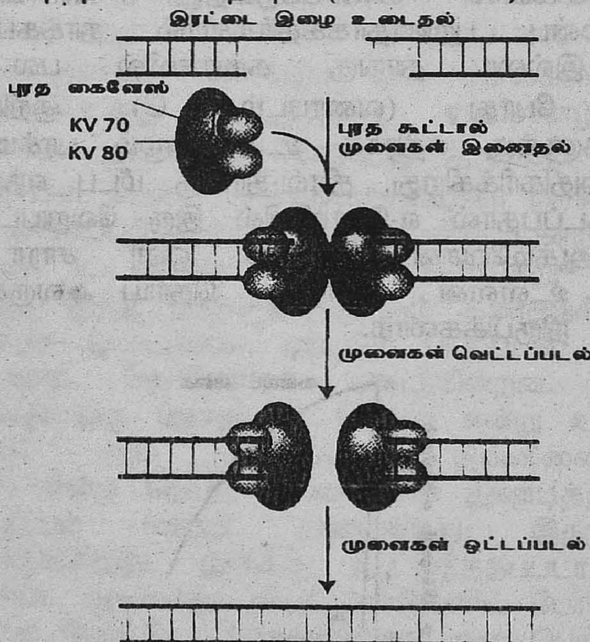
புறஊதாக்கதிருக்கு, அசாதாரண அளவு உணர்ச்சி கொண்ட எ.கோலி BS மியூட்டண்டுகள் பிரித்தெடுக்கப்படுகின்றன (படம் 14.10.). புறஊதாக்கதிர் வீச்சுக்குப்பின் இந்த மியூட்டண்டுகள் இருட்டில் வைத்திருக்கும் தாங்கு கரைசலில் விடப்படும்போது, மியூட்டண்டு களுக்கு அதிக அளவு உயிர்வாழ் திறன் இல்லை.

அதாவது, இருள் நீக்க பழுது நீக்கம் நடைபெறுவதில்லை. ஆனால் போட்டோ ரீ-ஆக்டிவேசன் இயல்பாக நடைபெறும். போட்டோ ரீ-ஆக்டிவேசன் மியூட்டண்டுகளில், திரவ-தாங்கு மீட்பு நடைபெறுகிறது. இதிலிருந்து எ.கோலியில் இருவித பழுதுநீக்க மண்டலங்கள் உள்ளன என்பது தெளிவாகிறது.

இரட்டை இழை உடைதல் பழுது நீக்கம்-மறுஇணைவு (Double Strand Break Repair-Recombination)

அயனி கதிர் வீச்சுகள் DNAவின் இரு இழைகளையும் சேதப்படுத்தும். இச்சமயம் கீழ்கண்ட ஏதாவது ஒரு முறையை பயன்படுத்தி செல்கள் அவற்றைப் பாதுகாக்கின்றன.

1. உடைந்த துண்டுகளை இழுத்து ஒன்றாய் ஒட்டுகின்றன. இதற்கு அமைப்பொவ்வா முனை சேர்த்தல் (non homologous end joining) என்று பெயர். இம்முறைக்கு Ku70, Ku80, புரத கைனேஸ் நொதிகள் உதவும் (படம் 14.11.).

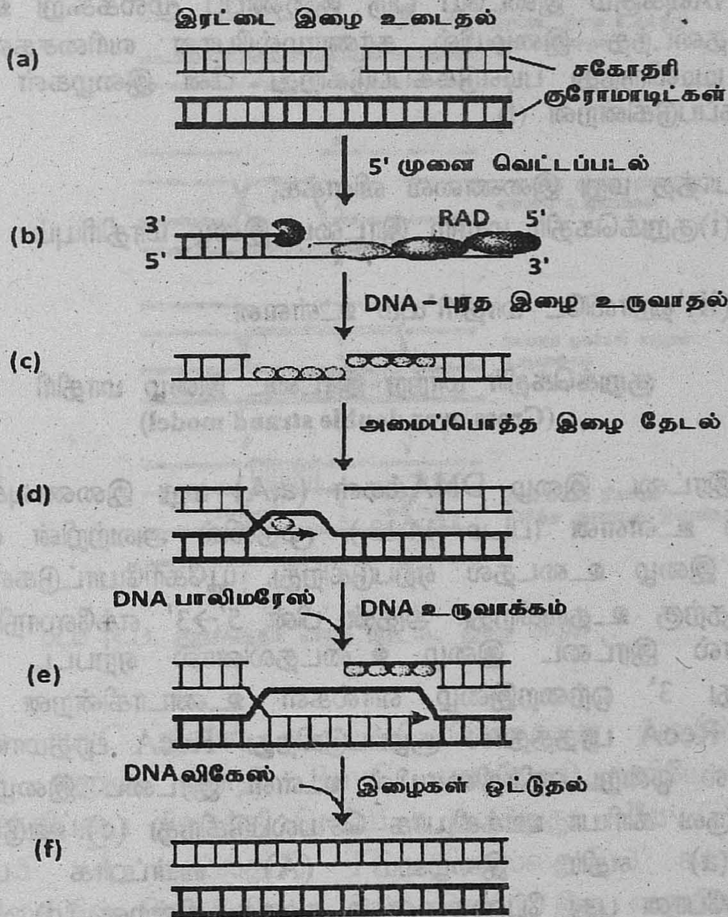


படம் 14.11. அமைப்பொவ்வா முனை சேர்தல்

2. 'DNA மறு இணைவு' முறையைப் பயன்படுத்தும். அதாவது இப்பழுதை சரிசெய்தல், அமைப்பொத்த DNA துண்டின் நியூக்ளியோடைட் வரிசைகளை (அதாவது சகோதரி குரோமாடிட் அல்லது ஒரு அமைப்பொத்த குரோமோசோம்) சார்ந்திருக்கும். ஆகவே இம்முறை **'அமைப்பொத்த பொது மறுஇணைவு'** (homologous recombination) எனப்படுகிறது.

ஒத்த மறு இணைவால் இரட்டை- இழை உடைதல் பழுது பார்க்கப்படல்

இம்முறையில் இரட்டை-இழை உடைதலை பழுது பார்க்க சகோதரி குரோமோடிட்டை பயன்படுத்துவதால் தவறு ஏற்படுவதில்லை. இம்முறை படம் 14.12.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது.



படம் 14.12. ஒத்த மறுஇணைவால் இரட்டை இழை உடைதல் பழுதுபார்த்தல்

உடைந்த DNA துண்டுகளின் முனையில் (a), விசேட புரதங்களும், நொதிகளும் இணைந்து, 5' முனை நீக்கப்பட்டு ஒற்றை இழை வெளிப்படுத்தப்படுகிறது. இப்போது இந்த பகுதிகளில் RecA புரதத்திற்கு இணையான RAD51 புரதம் இணைகிறது (b). இப்போது

RAD51 நீண்ட DNA புரத இழையை உருவாக்குகிறது (c). பின் இந்த DNA-புரத இழை, DNA உற்பத்திக்குத் தேவையான பூர்த்தி செய்யும் வரிசைகள் கொண்ட பழுதடையாத சகோதரி குரோமாடிடை தேடுகிறது (d). அமைப்பொத்த மூலக்கூறு அடையாளம் காணப்பட்டதுமே, அமைப்பொத்த பழுதடைந்த DNAவுக்கும், பழுதடையாத இரட்டை இழை DNAவுக்கும் இடையே ஒரு இணைப்பு மூலக்கூறு உருவாகிறது (e). பழுதடைந்த இழையில் காணாமல்போன வரிசைகள் சகோதரி குரோமாட்டிடிலிருந்து படிஎடுக்கப்படுகிறது. பின் இழைகள் லிகேஸாஸ் இணைக்கப்படுகின்றன (f).

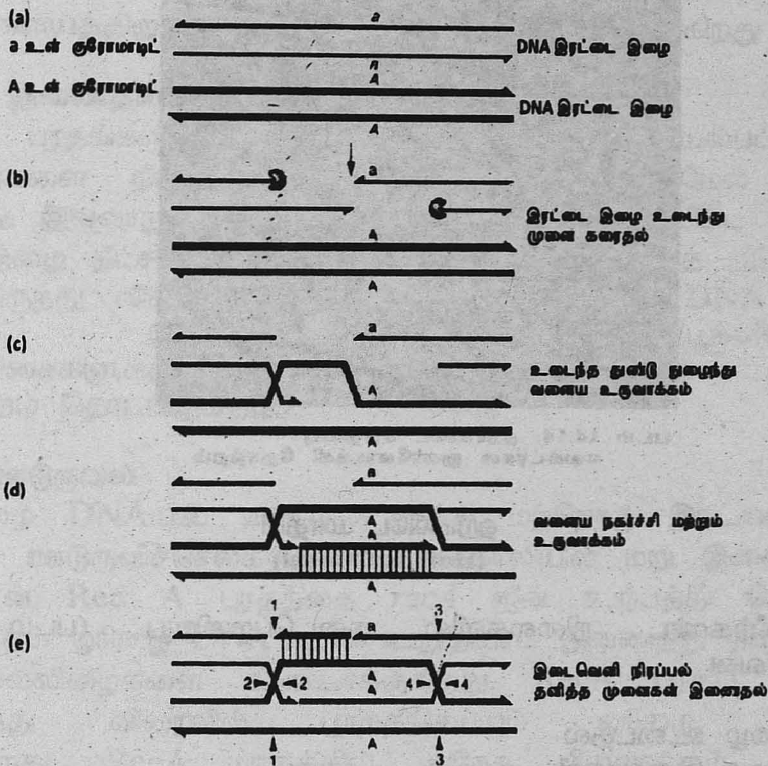
அமைப்பொத்த மறு இணைவை விளக்க,

(i)குறுக்கெதிர் மாற்ற இரட்டை இழை மாதிரியும்

(ii)'ஹாலிடே மாதிரி'யும் உள்ளன

குறுக்கெதிர் மாற்ற இரட்டை இழை மாதிரி
(Cross over double strand model)

இரண்டு இரட்டை இழை DNAக்கள் (a,A) மறு இணைவுக்குத் தயார் நிலையில் உள்ளன (படம் 14.13.). முதலில் அவற்றின் ஒன்றில் (a) இரட்டை இழை உடைதல் ஏற்படுகிறது. யூகேரியோட்டுகளில் Spo11 புரதம் இதற்கு உதவுகிறது. அதன் பின் 5'→3' எக்ஸோநியூக்ளியேஸ் செயலினால் இரட்டை இழை உடைதலினால் ஏற்பட்ட இடைவெளி அதிகரித்து 3' ஒற்றைஇழை வால்கள் உண்டாகின்றன (b), இந்த வால்கள் RecA புரதத்தால் சூழப்படுகிறது. RecA புரதமானது ஒற்றை இழைகளில் ஒன்று எதிர்திசையில் உள்ள இரட்டை இழை DNAவை (A) ஊடுருவ கிரியா ஊக்கியாக செயல்படுகிறது (c). ஊடுருவிச்சென்ற இழை (a) எதிர் இழையை (A) வார்ப்பாக பயன்படுத்தி, காணாமல்போன புது பேஸ்களை உருவாக்குகின்றன (d), இந்த பதிய உருவாக்கத்தினால் 'Aa' ஒவ்வா இரட்டை இழை (ஹெட்டிரோடூப்லக்ஸ்) உருவாக்குகிறது (e). இப்போது இடைவெளிகள் பாலிமரேஸால் நிரப்பப்பட்டு,முனைகள் லிகேஸால் ஒட்டப்பட்டு, இரு குறுக்கெதிர் மாற்ற அமைப்புகள் உண்டாகின்றன. இந்த குறுக்கெதிர் மாற்ற சந்திப்புகள் 'ஹாலிடே சந்திப்புகள்' எனப்படுகின்றன. இந்த சந்திப்புகளை விடுவிக்கும் போது ஒவ்வொரு சந்திப்பும் இரு விதமாக விடுவிக்கப்படுகிறது.



படம் 14.13. குறுக்கெதிர் மாற்ற இரட்டை இழை மாதிரி

எ.கோலியில் *ruvC* ஜீனின் உற்பத்தி பொருளான ரிஸால்வேஸ்கள் (resolvases) எனும் நொதி RuvC எண்டோநியூக்ளியேஸ் புரதம் ஹாலிடே சந்திப்பை நிவர்த்தி செய்ய உதவுகிறது. Ruv C ஹாலிடே சந்திப்பை 5' (A அல்லதுT) TT (Gஅல்லதுC)-3' கான்சென்சஸ் தொடர் வரிசையில் வெட்டுகிறது. இந்த வெட்டு இரு தைமின்களின் 3' பக்கத்தில் இருக்கும். ஓவ்வொரு குறுக்கெதிர் மாற்றத்திலும் இரண்டு ஹாலிடே சந்திப்புகள் இருப்பதால் நான்கு வித இணைவுகள் சாத்தியமாகிறது.

இந்த இணைவுகளில் சில கலப்பின DNAவின் பக்கத்திலுள்ள ஜீன்களின் அமைவிடத்தில், மறு இணைவு நடைபெறாத சிறு திட்டுகள் (patches) உண்டு பண்ணுகின்றன. பிற இணைவுகள் நுனிகளிலுள்ள ஜீன்களின் அமைவிடத்தில் பரஸ்பர மறு இணைவு நடைபெறும் ஒட்டுதல் உண்டு பண்ணுகின்றன. எலெக்ட்ரான் நுண்ணோக்கி மூலம் ஹாலிடே சந்திப்பை காண முடியும் (படம் 14.14.).



படம் 14.14. ஹாலிடே சந்திப்பு
எலக்ட்ரான் நுண்ணோக்கி தோற்றம்

ஹாலிடே மாதிரி
(Holliday Model)

இது கீழ்கண்ட நிலைகளில் நடைபெறுகிறது (படம் 14.15.). அவையாவன

1. இழை உடைதல்
2. இழை இணைதல்
3. இழை ஊடுருவல்
4. கிளை இடப்பெயர்வு
5. குறுக்கெதிர் மாற்றத்தினால் கயாஸ்மா உண்டாகுதல்
6. உடைதல் மற்றும் மறு இணைவு பழுது நீக்கம்.
7. தவறிணை (mismatch) ப்ழுது நீக்கம்

1. இழை உடைதல்

பொது மறு இணைவு இரு இரட்டை இழை DNAக்களின் இணையான ஒற்றை இழைகளுக்கிடையே குறுக்கெதிர் மாற்றம் ஏற்பட்டு நடைபெறுகிறது. (படம் 14.15a.). எ.கோலியின் மறு இணைவுக்கு *recBCD* அல்லது *recI* ஜீன்களின் RecBCD புரதங்கள் உதவுகின்றன. இந்த புரதம் இரட்டை இழை DNAவின் ஒரு நுனி வழியாக நுழைந்து ஒரு நொடிக்கு 300 நியூக்ளியோடைடுகள் வேகத்தில் DNA மூலம் நகர்நது சென்று அதில் ஒற்றை இழை DNA வளையத்தை ஏற்படுத்துகிறது. ATP மூலக்கூறுகளின் நீராற்பகுத்தலிடமிருந்து அதற்கான சக்தியைப்பெறுகிறது. எ.கோலி குரோமோசோம் 8 நியூக்ளியோடைடுகளைக் கொண்டு குறிப்பிட்ட இலக்கில் (recognition

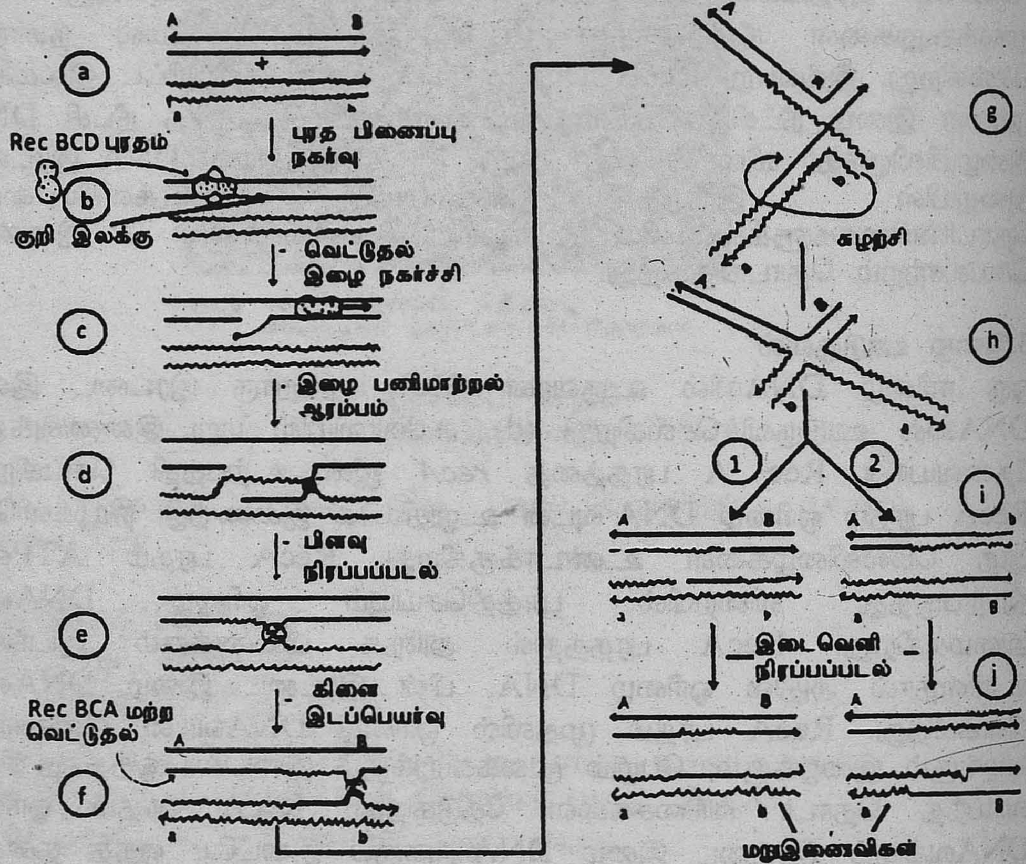
site) பரவிக் காணப்படுகிறது. RecBCD புரதத்தால் உண்டாக்கப்பட்ட DNA வளையத்திலுள்ள அந்த இலக்கில் பிளவு ஏற்படுகிறது (b).

2. இழை இணைதல்

RecBCD புரதங்கள் DNA ஹெலிகேஸ் போல செயல்பட்டு ATP மூலக்கூறுகளை நீராற்பகுத்து (hydrolyse) DNA மேல் நகர்ந்து செல்கிறது. இவ்வாறு RecBCD புரதங்கள் அந்த குறிப்பிட்ட இலக்கில் ஒற்றை இழை நீட்சி (whisker) உண்டாக்குகிறது. அந்த நீட்சி DNA இழையிலிருந்து விலகிச் செல்கிறது (c), இதனால் DNA இரட்டை இழையில் இரு இணையான நியூக்ளியோடைட் தொடர்வரிசைகளுக்கிடையே பேஸ் வரிசைகளின் இணைவு செயலாற்றம் தொடங்குகிறது.

3.இழை ஊடுருவல்

ஒரு ஈரிழை DNAயில் உருவான நீட்சி மற்றொரு இரட்டை இழை DNAவை ஊடுருவிச்செல்கிறது (d), எ.கோலியில் மறு இணைவுக்குத் தேவையான Rec A புரதத்தை *recA* ஜீன் உற்பத்தி செய்கிறது. RecA புரதம் ஓரிழை DNA வுடன் உறுதியாக இணைந்து நியூக்ளியோ புரத மெல்லிழைகளை உண்டாக்குகிறது. RecA புரதம் ATPயை நீராற்பகுத்து விரைவில் பூர்த்திசெய்யும் ஓரிழை DNAவை அமைக்கிறது. RecA புரதத்தில் அநேக பிணைக்கும் இடங்கள் உள்ளதால் அதில் ஓரிழை DNA, பின் இரட்டை இழை DNAவை பிளக்கிறது. RecA புரதம் முதலில் ஓரிழை DNAவுடன் பிணைந்து, வழங்கும் இழைக்கும், பெறும் மூலக்கூறுக்கும் இடையே ஒத்த தன்மை வாய்ந்த தொடர் வரிசைகளை தேடுகிறது. RecA புரதம் ஓரிழை DNAவுக்கும் இரட்டை இழை DNA வுக்கும் இடையே ஒத்த தன்மை வாய்ந்த பகுதியில் ஏற்படும் இணைப்புக்கு கிரியா ஊக்கியாக செயல்படுகிறது. முதலில் ஒத்த தன்மை கொண்ட இடத்தை கண்டறிந்தவுடன் ஒரு மூவிழைத் தொகுப்பு (ஓரிழை DNA ஈரிழை DNA மற்றும் RecA புரதம்) உருவாகிறது. இந்தத் தொகுப்பு நிலையற்றது. அது ஒரு DNA ஹெட்டிராடூப்லக்ஸ் + ஒரு இடம் பெயர்க்கப்பட்ட ஓரிழை DNAவை முதன்மை இழையிலிருந்து கழற்றி விடுகிறது. ஒத்த தன்மை கொண்ட பகுதிகள் இனம் கண்டு கொள்ளப்பட்டடு ஓரிழை DNAவும் ஈரிழை DNAவும் தொகுப்பாக ஆகியபின் ஒரு நிலைத்த ∞ வளையம் உருவாகிறது.



படம் 14.15. ஹாலிடே மாதிரி

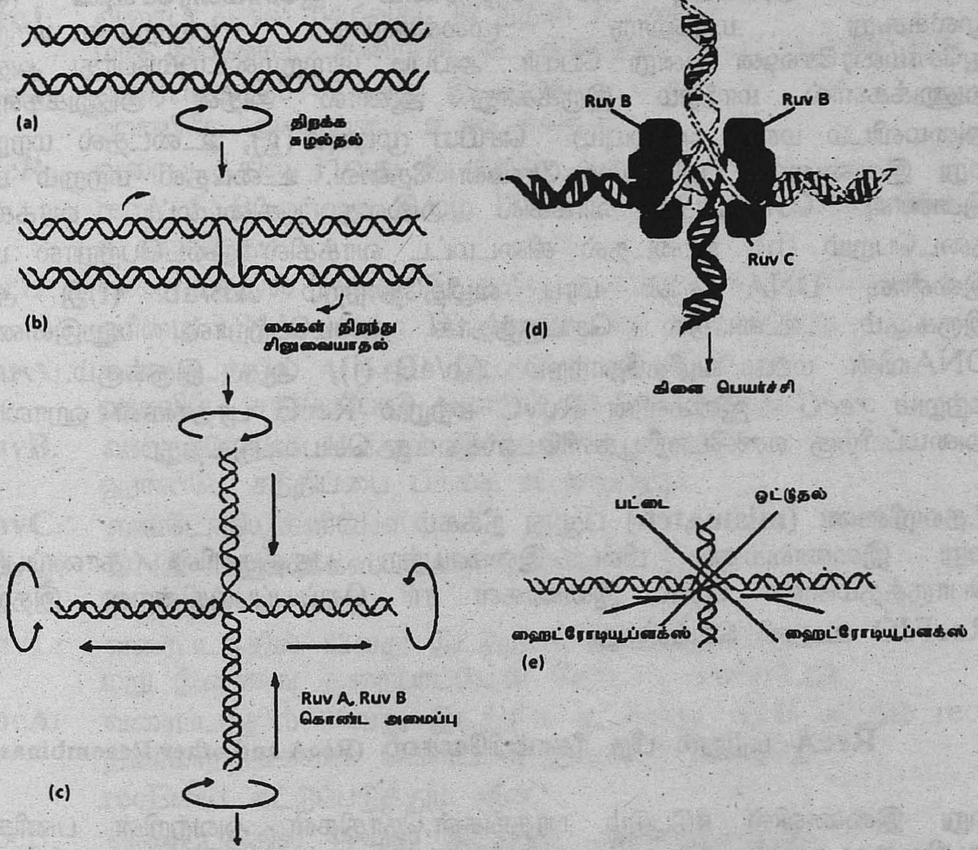
4.கிளை இடப்பெயர்வு

பின்பு இழை தன்மயமாகி இடைவெளி நிரப்பப்படுகிறது (e),அளிக்கும் இழை, படிப்படியாக பெறும் இழையை இடப்பெயர்வு செய்கிறது. இதற்கு கிளை இடப்பெயர்வு என்று பெயர் (படம் 14.16.).

5. கயாஸ்மா அல்லது குறுக்கெதிர் மாற்றம் ஏற்படல்

இரு இரட்டை இழை DNAக்களுக்கிடையே ஒற்றை இழை பரிமாற்றம் நடைபெறுகிறது. நியூக்ளியேஸ் நொதி D-வளையத்தின் சில இடங்களை பகுதி நீக்கம் செய்கிறது. இந்நிலையில் குறுக்கு எதிர் இழை பரிமாற்றம் ஹாலிடே சந்திப்பு அல்லது கயாஸ்மா நடைபெறுகிறது (f), கயாஸ்மாவில் பரிமாற்ற சந்திப்பு இடம் கிளை இடம் பெயர்தல் மூலம் வேகமாக முன் பின்னாக இடம் பெயர

முடியும். கயாஸ்மாவில் குறுக்கெதிர் பரிமாற்றம் நடைபெற்ற ஓரிணை இழையும் குறுக்கெதிர் மாற்றம் நடைபெறாத ஓரிணை இழையும் காணப்படுகிறது.



படம் 14.16. ஹாலிடே சந்திப்பில் கிளை இடப்பெயர்ச்சி

a) இரு இரட்டை திருகு சுழல்கள் ஒரு குறுக்கெதிர் மாற்றத்தால் இணைக்கப்பட்டுள்ளது.

b) ஒரு இரட்டைதிருகு சுழல் சுழலும்போது அமைப்பு திறந்து கொள்கிறது.

c) கிளை இடப்பெயர்ச்சியின் போது கைகள் நகரும் திசையை காணப்பிக்கிறது. அம்புக்குறிகள், இழுக்கும் திசைகளை காட்டுகின்றன.

d) படம் (C) யில் RuvA மற்றும் RuvB, RuvC இணைந்திருப்பதை காட்டுகிறது. RuvA புரதம் RuvC புரதத்திற்கு முன்னால் அமைந்து (படத்தில் காட்டப்படவில்லை) அவையிரண்டும் சிலுவையின் மையப்பகுதியில் சாண்ட்விச் போல் காணப்படும்.

e) RuvC சிலுவையை மாற்றி ஒரு புரியிணையாகவோ (splice) பட்டையாகவோ (patch) மாற்றுகிறது.)

6.உடைதலும் மறு இணைவும்

கயாஸ்மா அமைப்பு பல சுழற்சியை **ஐசோமரைசேஷன்** (ஒரு மூலக்கூறு மற்றொரு மூலக்கூறாக மாற்றமடைவதற்கு ஐசோமரைசேஷன் என்று பெயர். அப்படி மாற்றமடையும்போது அதன் அணுக்களில் மாற்றம் இருக்காது ஆனால் அதன் அணுக்களின் அமைவிடம் மாறி அமையும்) செய்ய முடியும் (g), உடைதல் மற்றும் மறு இணைவுக்கு ஐசோமரைசேஷன் தேவை. உடைதல் மற்றும் மறு இணைவு செங்குத்து வாக்கில் அல்லது கிடைமட்ட வாக்கில் நடைபெறும் (h), உடைதல் கிடைமட்ட வாக்கில் நடைபெற்றால் மறு இணைவு DNA வின் மரபு வழித்தோற்றம் AB/ab (i)இ ஆக இருக்கும். உடைதல் செங்குத்தாக நடைபெற்றால் மறுஇணைவு DNAவின் மரபு வழித்தோற்றம் Ab/aB (j), ஆக இருக்கும். *ruvC* மற்றும் *recG* ஜீன்களின் RuvC மற்றும் RecG புரதங்கள் ஹாலிடே அமைப்பிற்கு எண்டோநியூக்ளியேஸ்களாக செயல்படுகிறது.

7.தவறிணை (mismatch) பழுது நீக்கம்

மறு இணைவுக்குப் பின் இணையற்ற பகுதிகளில் காணப்படும் பொருத்தமில்லா பேஸ் இணைகள் சரி செய்யப்படுகின்றன. இதற்கு RecFJO உதவி செய்கிறது.

RecA மற்றும் பிற ரீகாம்பினேசஸ் (RecA and other Recombinases)

மறு இணைவில் ஈடுபடும் புரதங்கள்,நொதிகள் அவற்றின் பணிகள் ஆகியவை பற்றிய தொகுப்பு வருமாறு:

recA: ஜீன் வரைபடத்தில் 58 வது இடத்தில் அமைந்துள்ளது. மறு இணைவில் ஏற்படும் குறைபாடுகளை நிவர்த்தி செய்கிறது. பல புறவழித்தோற்ற குறைபாடுகளையும் சரி செய்கிறது. பொது மறுஇணைவுக்கு உதவி செய்கிறது.

recB: வரைபடத்தில் 61வது இடத்தில் உள்ளது. எக்ஸோநியூக்ளியேஸ் Vஇன் அமைப்பு ஜீன்.

recC: வரைபடத்தில் 61வது இடத்தில் உள்ளது. எக்ஸோநியூக்ளியேஸ் V இன் அமைப்பு ஜீன்.

recD: வரைபடத்தில் 6வது இடத்தில் உள்ளது. எக்ஸோநியூக்ளியேஸ் V இன் α துணை அலகு.

recE: வரைபடத்தில் 30வது இடத்தில் உள்ளது.

recF: வரைபடத்தில் 83வது இடத்தில் உள்ளது. புறஊதாக் கதிர்வீச்சினால் புரோபேஜின் தூண்டுதலை தடை செய்யும்.

recJ: வரைபடத்தில் 64.6வது இடத்தில் உள்ளது. மறு இணைவு குறைபாட்டை நிவர்த்தி செய்ய உதவுகிறது.

recG: வரைபடத்தில் 82.6வது இடத்தில் உள்ளது. ஹாலிடே அமைப்பை உடைக்கிறது.

recR: வரைபடத்தில் 11வது இடத்தில் அமைந்துள்ளது. recA SSB ஒற்றை இழை DNA தொகுப்பை உபயோகிக்க உதவுகிறது.

recO: வரைபடத்தில் 56வது இடத்தில் உள்ளது. காம்ப்ளிமென்டரி ஓரிழை DNA ஈரிழை DNAவாக மாற உதவுகிறது.

ruvA: வரைபடத்தில் 41.6ஆம் இடத்தில் அமந்துள்ளது. ஹாலிடே சந்திப்போடு தொகுப்பாக அமைகிறது.

ruvB: வரைபடத்தில் 41.6ஆம் இடத்தில் உள்ளது. ஹாலிடே சந்திப்பை பிரிக்க உதவுகிறது.

ruvC: எண்டோநியூக்ளியேஸ்.

ruvQ: DNA ஹெலிகேஸ் வரைபடத்தில் 86.5ஆம் இடத்தில் உள்ளது.

ruvL: வரைபடத்தில் 83வது இடத்தில் அமைந்துள்ளது. மறு இணைவு குறைபாட்டுடன் தொடர்பு கொண்டது.

sbcA: வரைபடத்தில் 30வது இடத்தில் உள்ளது. recB மற்றும் recC திடீர்மாற்றங்களை வெளிப்படுத்தாமல் தடுக்கிறது. recEயை கட்டுப்படுத்தும் ஜீன்.

sbcB: வரைபடத்தில் 44-வது இடத்தில் அமைந்துள்ளது. எக்ஸோநியூக்ளியேஸ் I-ன் அமைப்பு ஜீன்.

கிரி-லாக்ஸ் மறு இணைவு (Cre-Lox Recombination)

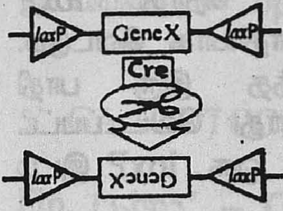
Cre-Lox மறு இணைவு பிரியன் சாயர் (Brian Sauer) என்பவரால் கண்டறியப்பட்ட தனித்தன்மை வாய்ந்த குறிஇலக்கு மறு இணைவாகும். Cre-Lox மறு இணைவு ஒரு குறிப்பிட்ட DNA தொடர்வரிசை, மற்றும் Cre-ரீகாம்பினேஸ் நொதியின் உதவியினால் ஒட்டுதல் (ஸ்ப்ளைசிங்) செய்தல் தொடர்பானதாகும். இந்த நுட்பம் நாக் அவுட் (வெளியேற்றம்) மற்றும் நிபந்தனை நாக் அவுட் விலங்குகள் உருவாக்கத்திற்கு பயன்படுத்தப்படுகிறது. சில ஜீன்களை வெளியேற்றுவதால் வளரும் கரு இறந்துவிட வாய்ப்பு உள்ளதால்

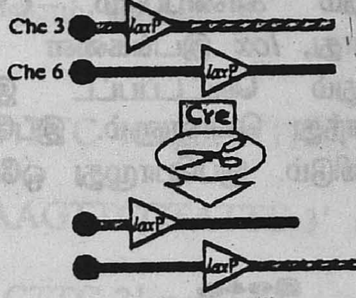
முழு உயிரியை பெறுவது இயலாமல் போய்விடும். ஆகவே முழு உயிரியில் அந்த ஜீனின் விளைவுகளை ஆராய முடிவதில்லை. முழு உயிரிகளில் வெளியேற்றப்பட்ட ஜீன்களை அறிய Cre-Lox மறு இணைவு உதவுகிறது.

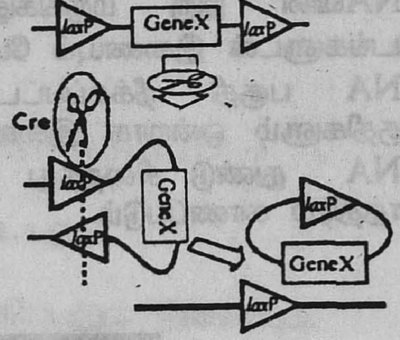
ஜீனோமிக் DNAவில் குறிப்பிட்ட இலக்கில் நடைபெறும் மறுஇணைவுகளை கட்டுப்படுத்தும் மரபுக்கருவியாக Cre-Lox மண்டலம் உபயோகிக்கப்படுகிறது. இதன் மூலம் ஆராய்ச்சியாளர்கள் உயிரிகளில் பல வித மரபியல் மாற்றங்கள் ஏற்படுத்தி ஜீன் வெளிப்பாட்டை கட்டுப்படுத்துதல், தேவையற்ற DNA தொடர் வரிசைகளை நீக்குதல் மற்றும் குரோமோசோம் அமைப்பை மாற்றியமைத்தல் போன்றவற்றை செய்ய முடிகிறது.

Cre புரதமானது ஒரு குறிப்பிட்ட இலக்கு DNA ரீகாம்பினேஸாகும். இது ஒரு DNA மூலக்கூற்றில் உள்ள குறிப்பிட்ட இலக்குகளுக்கிடையில் நடைபெறும் மறு இணைவுக்கு கிரியா ஊக்கியாக செயல்படும். அந்த இலக்குகள் *loxP* வரிசைகள் என்று அழைக்கப்படுகின்றன. அவற்றில் Cre புரதம் இணைவதற்கான குறிப்பிட்ட இடங்கள் காணப்படுகின்றன. இவை மறு இணைவு நடக்கும் முக்கிய வரிசையை சூழ்ந்து காணப்படும்.

ஜீனோமில் *loxP* கொண்ட செல்களில் Cre புரத வெளிப்பாடு காணப்பட்டால் *loxP* இலக்குகளுக்கடையே மறு இணைவு நடைபெறலாம். ஈரிழை DNA Cre புரதத்தால் இரண்டு *loxP* இலக்குகளிலும் வெட்டப்படுகிறது. பின்பு இழைகள் DNA லிகேசினால் மறுபடியும் இணைக்கப்படுகிறது. இந்த மறு இணைவின் விளைவு *loxP* இலக்குகளின் அமைவிடத்தைப் பொறுத்து இருக்கும். ஒரே குரோமோசோம் புஜத்தில் இரு *loxP* இலக்குகளும் இருந்தால் தலைகீழ் திருப்பம் (inversion) ஏற்படும். *loxP* இலக்குகள் அடுத்தடுத்து காணப்பட்டால் நீக்கம் (deletion) ஏற்படும். *loxP* இலக்குகள் வெவ்வேறு குரோமோசோம்களில் இருந்தால் Cre புரதத்தால் தூண்டப்படும் மறு இணைவின் கிரியா ஊக்க செயலினால் இடமாற்றம் (translocation) ஏற்படும் (படம் 14.17.).







படம் 14.17. Cre lox மறு இணைவு முறைகள்

Cre ரீகாம்பினேஸ்

Cre (Cyclization Recombination) புரதம் நான்கு துணை அலகுகளைக் கொண்டது. ஒரு பெரிய கார்பாக்சில் தொகுப்பு (C - நுனி) மற்றும் ஒரு சிறிய அமினோ அமிலத் தொகுப்பு (N-நுனி) ஆகிய இரு பகுதிகளைக் கொண்டது. மொத்த Cre புரதத்தில் 343 அமினோ அமிலங்கள் உள்ளன. C -பகுதியின் அமைப்பு லாம்டா பேஜிலிருந்து பிரித்தெடுக்கப்பட்ட நொதிகளின் C -பகுதியை ஒத்துக் காணப்படும். இப்பகுதிதான் நொதியின் கிரியா ஊக்க செயல் இலக்காகும்.

loxP இலக்கு

loxP (locus of X-over P1) P1 பாக்டீரியோபேஜில் 34 பேஸ்களைக் கொண்ட ஒரு இலக்கு. இதன் அமைப்பு கீழ்க்கணடவாறு இருக்கிறது.

13 பேஸ்கள் 8பேஸ்கள் 13 பேஸ்கள்

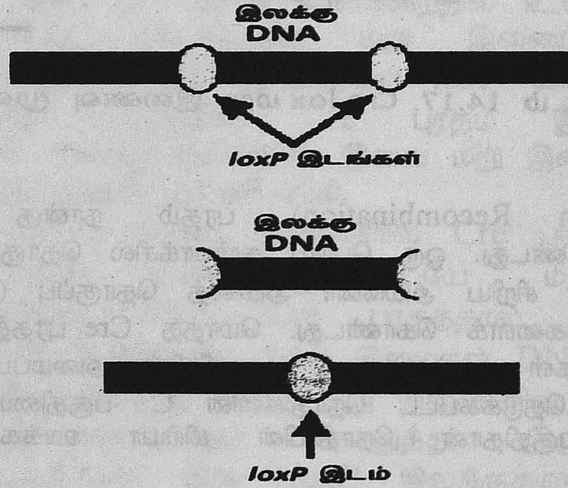
ATAACTTCGTATA - GCATACAT – TATACGAAGTTAT

13 பேஸ்களைக் கொண்ட இரண்டு பாலின்ட்ரோமிக் தொடர் வரிசைகளுக்கிடையே 8 பேஸ்கள் கொண்ட சரிசமமில்லா தொடர் வரிசை காணப்படுகிறது.

Cre-Lox மண்டலம் செயல்படும் விதம்

பாக்டீரியோபேஜ் P1 மண்டலத்தில் துண்டிக்கப்பட வேண்டிய ஜீனின் இரு மருங்கிலும் *loxP* DNA வரிசைகள் அல்லது இலக்குகள் காணப்படுகின்றன. கிரி நொதியின் உதவியினால் பேஜ் P1ன் குரோமோசோமின் வடிவம் மாறுபாடடைந்து, இரண்டு *loxP* இலக்குகளும் நெருங்கி வருவதால் குறிஇலக்கு திடீர் மாற்றம்

நடைபெறும் (Site-Specific mutagenesis) இதனால் P1 குரோமோசோமிலிருந்து துண்டிக்கப்பட வேண்டிய DNA தொடர் வரிசை வட்டவடிவமாக துண்டிக்கப்படுகிறது. படம் 14.18. இந்நிகழ்வுகளை தெளிவாக விளக்குகிறது. *loxP* இடங்கள் எப்பொதுமே ஜோடியாக செயல்படும். அவை நீக்கப்பட வேண்டிய DNAவின் இரு மருங்கிலும் காணப்படும். Cre நொதி *loxP* இடங்களுடன் இணையும் போது, *lox* இடங்களை பாதியாக வெட்டும். DNA பகுதி நீக்கப்பட்டதும் வெட்டப்பட்ட இந்த இரு பாதி பகுதிகளும் ஒன்றாக இணைந்து கொள்ளும். இப்போது வெட்டப்பட்ட DNA துண்டு சிதைந்து விடும். இப்பொழுது ஒரே ஒரு loxP இடம் மாத்திரம் காணப்படும்.



படம் 14.18. Cre *lox* மறு இணைவு

P1 பேஜில் இயற்கையாகவே காணப்படும் முறையை தற்போது உயிரிதொழில்நுட்ப வல்லுநர்கள் ஒரு குறிப்பிட்ட சமயத்தில் ஒரு DNA துண்டை வெட்டிநீக்க பயன்படுத்துகின்றனர். நீக்கப்பட வேண்ழய DNAவின் இரு மடங்கிலும் *loxP* இடங்களை சேர்த்து அதில் Cre நொதியை நுழைத்தால் வெட்டப்பட வேண்டிய DNA துண்டு துண்டிக்கப்படும்.

FLP-FRT மறு இணைவு

செல்லுக்குள் ஒரு உயிரியின் DNAவை கையாளப் பயன்படும் ஒரு குறிப்பிட்ட-இலக்கு மறு இணைவு **FLP-FRT** மறு இணைவாகும். இது Cre-Lox மறு இணைவுக்கு ஒப்பானதாகும். இது சிறு ஃபிலிப்பேஸ்

அடையாளம் காணுமிட (Flippase Recognition Target-FRT) வரிசைகட்கு இடையே நடைபெறும் மறு இணைவாகும். இம்மறுவிணைவற்கு காரணமாயிருப்பது சாக்காரோமைசிஸ் செரிவிசியே ஈஸ்டின் 2µ ப்ளாஸ்மிடிலிருந்து பெறப்பட்ட ஃபிலிப்பேஸ் மறு இணைவு (FLP அல்லது flp-ஃபிலிப் என உச்சரிக்கப்படும்) நொதியாகும். FRT இடவரிசை 34 bp நீளம் கொண்டது.

5' GAAGTTCCTATTC tctagaaa GTATAGGAACTTC -3'

Flp 13-bp5' – GAAGTTCCTATTC-3' உடனும்

5' GTATAGGAACTTC-3' தலைகீழ் பகுதியுடனும் இணையும்.

மேல் இழையில் FRT இடம், 5'- tctagaaa-3' (8bp) சமச்சீரற்ற மைய பகுதி வரிசைக்கு முன்பும், கீழ் இழையில் இந்த வரிசைக்கு பின்பும் வெட்டப்படும். மறு இணைவு இரு ஒத்த FRT இடங்கட்கு இடையே மாத்திரம் நடைபெறும். வெவ்வேறு திரும்ப திரும்ப காணப்படும் FRT பகுதிகட்கிடையே FLP மறு இணைவை தூண்டும். இந்த மறு இணைவால் இடைப்பட்ட DNAவும் ஒரு FRTயும் வெட்டி நீக்கப்படும். FLPயின் இந்த பண்பைப் பயன்படுத்தி மரபியலாளர்கள் டுரோசோபிலாவின் குறிப்பிட்ட ஜீன்களுக்கான உடற்செல் அல்லது இனவழி மொசைக்குகளை உருவாக்குகின்றனர். மேலும் FLPயின் இப்பண்பை பயன்படுத்தி ஒரு குறிப்பிட்ட உறுப்பிலுள்ள ஒரு ஜீன் இழந்தாலோ அல்லது மாற்றமடைந்தாலோ ஏற்படும் விளைவுகளையும் கண்டறியலாம்.

ஜீன் குறி இலக்கு (Gene targeting) ஜீன் பிளத்தல் (Gene disruption)

ஒரு ஜீனை மாற்றுவதற்காக ஒத்த மறு இணைவு முறையை பயன்படுத்தும் ஒரு மரபியல் தொழில்நுட்பம் 'ஜீன் குறி இலக்கு' எனப்படுகிறது. இம்முறை ஒரு ஜீனை நீக்கவோ, எக்ஸான்களை நீக்கவோ, ஒரு ஜீனை சேர்க்கவோ புள்ளி திடீர் மாற்றங்களை உருவாக்கவோ பயன்படுகிறது. ஜீன் குறி இலக்கு நிரத்தரமாயிருக்கலாம் அல்லது கட்டுப்பாடுகள் கொண்டதாய் இருக்கலாம். ஒரு உயிரியின் வளர்நிலையிலோ அல்லது ஒரு குறிப்பிட்ட திசுவிலோ இந்த கட்டுப்பாடு இருக்கலாம்.

ஜீன் குறி இலக்கு முறை பாக்டீரியா, சுண்டெலி, தாவரங்கள் ஆகியவற்றில் பயன்படுத்தப்படுகிறது. தற்போது மனிதனுக்கு

சோதனைச் சாலை அளவில் மிக நெருங்கிய உயிரினம் சுண்டெலியாகும். ஆகவே அதில் நடத்தப்பட்ட 'நாக் அவுட் (knock out- ஜீன் வெளியேற்றம்) சுண்டெலி' சோதனை பயனுள்ளதாய் இருக்கும் எனக் கூறப்படுகிறது. நாக் அவுட் சுண்டெலி என்பது மரபுப் பொறியியலால் தூண்டப்பட்டு உருவான சுண்டெலி. இதில் ஒரு ஜீன் அல்லது அதிக ஜீன்கள், ஜீன் வெளியேற்றம் (நாக் அவுட்) மூலம் செயல்படாமல் செய்து அதனால் உருவாகும் சுண்டெலிக்கும் சாதாரண சுண்டெலிக்கும் உள்ள வேறுபாடுகளை அறியலாம். இதன் மூலம் இதுவரை வரிசைப்படுத்தப்பட்டு ஆனால் பணிகள் அறியப்படாமல் இருக்கும் ஜீன்களின் பணிகளைக் கண்டறியலாம். நாக் அவுட் சுண்டெலி உருவாக்கத்திற்காக 2007ம் வருட நோபல் பரிசு காபெச்சி, மார்டின் இவான்ஸ், ஆலிவர் ஸ்மைத்ஸ் (Capecchi, Martin Evans, Oliver Smithies) ஆகியோருக்கு வழங்கப்பட்டது. இம்முறைக்கு பல நாடுகளில் காப்புரிமை வழங்கப்பட்டுள்ளது.

பொதுவாய் குறி இலக்கிற்காக ஒரு ஜீன் உருவாக்கப்படும். இதில் தாக்கப்பட வேண்டிய ஜீனின் ஒரு பகுதி, ஒரு ரிப்போட்டர் ஜீன் ஒரு குறியீடு (marker) ஆகியவை காணப்படும். இந்த ஜீன், சோதனைச் சாலையில் வளர்க்கப்படும் சுண்டெலியின் கரு ஸ்டெம் செல்களுக்குள் நுழைக்கப்படும். பின் இந்த செல்கள் சுண்டெலியின் கருவிற்குள் செலுத்தப்படும். இதன் மூலம் வளரும் சுண்டெலி ஜீன்மாற்றமடைந்த நாக் அவுட் சுண்டெலியாக இருக்கும்.

ஜீன் பிளத்தல் முறையிலும் ஒத்த மறு இணைவு மூலம் செயல்பட்டு நாக் அவுட் சுண்டெலிகளை உருவாக்குகிறது. உயிரியின் ஜீனோமிலுள்ள குறிப்பிட்ட ஜீனை பிளத்தல் அல்லது வெளியேற்றலை இது குறிக்கும்.

15. மனித ஜீனோமின் பொது அமைப்பு
பல ஜீன் குடும்பங்கள், டிரான்ஸ்போஸான்கள்
(General Organization of the Human Genome)
(Human Multigene Families, Repetitive Coding DNA, Transposable Elements)



ஜியோ (Tjio) மற்றும் லீவன் (Levan) 1956ல் மனித குரோமோசோம் எண்ணை (2n=46) சரியாகக் கணித்தனர். அதன்பின் அவற்றின் தோற்ற அமைப்பு கொண்டு 23 குரோமோசோம்களும் தொகுதிகளாகப் பிரிக்கப்பட்டன (அட்டவணை 15.1.).

அட்டவணை 15.1.

மனிதனின் 23 குரோமோசோம்கள் 7 தொகுதிகளாக அமைக்கப்படல்

தொகுதி	குரோமோசோம்கள்
A	1-3
B	4-5
C	6-12,X
D	13-15
E	16-18
F	19-20
G	21-22

நீள்வாக்கில் குரோமோசோம்களில் உள்ள வேறுபாடுகளைச் கண்டறிய 1960களில் "பட்டைகோடு முறை" (banding technique) உருவாக்கப்பட்டது. அதிலிருந்து G-பட்டைகோடு அமைப்பு, C-பட்டைகோடு அமைப்பு, Q-பட்டை கோடு அமைப்பு ஆகிய முறைகள் உருவாக்கப்பட்டு மனித குரோமோசோம்கள் ஆராயப்பட்டன. இத்தொழில் நுட்பங்களில் குறிப்பான சாயங்கள் பயன்படுத்தப்பட்டன. அவை சில சமயம் ஒளிரக்கூடியதாய் இருந்து, மனிதனின் பல்வேறு குரோமோசோம்களுக்கிடையே நுண்வேறுபாடுகளைக் காட்டியது. ஜீம்ஸா (giemsa) எனும் வேதியல் சாயத்தை கலக்கும் முன் குரோமோசோம்களை சில வேதியல் மாற்றங்கட்கு உட்படுத்தும்போது பலவரிசை பட்டை கோடுகள் தெரியும். இவை ஒவ்வொரு குரோமோசோமையும் அடையாளம் காணவும், அமைப்பு வேறுபாடுகளைக் கண்டறியவும் உதவும். G-பட்டைகோடு அமைப்பு, இடைப்பட்ட (intercalary) பட்டைகளையும், C-பட்டைகோடு, சென்ட்ரோமியர் பகுதியை மட்டுமே காட்டும். மனித குரோமோசோம்களை அடையாளம் காண 'ஒளிர் முன்னிருந்த அதே

இட கலப்பினமாக்கம்' (fluorescence *in situ* hybridization - FISH) முறையும், 'பல வண்ண ஒளிர் அதே இட கலப்பினமாக்கம்' (McFISH) முறையும் பயன்படுத்தப்பட்டு 24 மனித குரோமோசோம்களும் (22 ஆட்டோசோம்கள் +X மற்றும் Y) அடையாளம் காணப்பட்டுள்ளன.

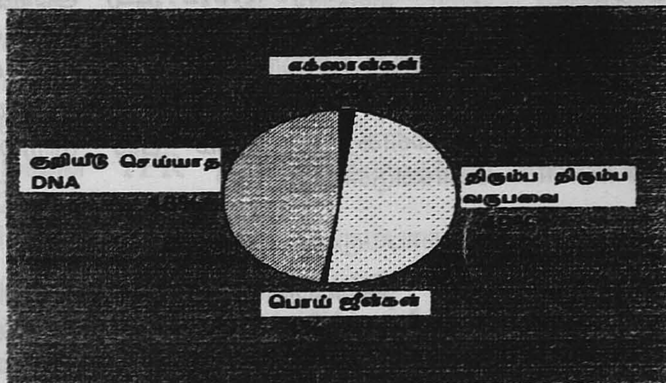
அட்டவணை 15.2.
மனித குரோமோசோம்களின் இயற்பிய அளவுகள்

குரோமோசோம்	அளவு (Mbp) (1,000,000 bp கள்)
1	249
2	237
3	192
4	183
5	174
6	165
7	153
8	135
9	132
10	132
11	132
12	123
13	108
14	105
15	99
16	84
17	81
18	75
19	69
20	63
21	54
22	57
X	141
Y	60

மனித ஜீனோம் பொது அமைப்பு: நமது மரபியல் தகவல்கள் நியூக்ளியஸ் மற்றும் மைட்டோகாண்ட்ரியாவில் சேமித்து வைக்கப்பட்டுள்ளன. நியூக்ளியஸ் ஜீனோம் 3.2 மில்லியர்ட் (10^9- ஆயிரம் மில்லியன்கள்) பேஸ் இணைவிகளை 22 ஜோடி ஆட்டோசோம்களிலும், இரு பால் குரோமோசோம்களிலும் அடைத்து வைத்துள்ளன. மனித குரோமோசோம் யாவும் ஒரே நீளத்துடன்

இருப்பதில்லை. சிறிய குரோமோசோமான 21, 54 மில்லியன் bp (base pairs A-T, C-G) நீளம் கொண்டது. பெரிய 1ஆவது குரோமோசோம் இதைவிட 5 மடங்கு பெரியது. இது 249 மில்லியன் bp கொண்டுள்ளது (அட்டவணை 15.2.).

ஜீனோம் வரிசைகளைப் பல முறைகளில் பிரிக்கலாம். பணியை அடிப்படையாகக் கொண்டு பார்க்கும்போது ஜீன்கள், பொய் ஜீன்கள் (pseudogenes) மற்றும் குறியீடு செய்யாத DNA எனப் பிரிக்கலாம் (படம் 15.1.). ஜீனோமின் மிகச்சிறய அளவான 3 சதவீதம் மட்டுமே புரதங்களைக் குறிக்கிறது. பல பொய் ஜீன்கள் காணப்படுகின்றன. ஆனால் ஜீனோமின் பெரும்பகுதி இன்ட்ரான்களையும் ஜீன் இடை (intergenic) DNAகளையும் கொண்டுள்ளன. இந்த வரிசைகளில் பாதியளவு டிரான்ஸ்போஸான்களைக் கொண்டுள்ளது. மேலும் மீதியுள்ள குறியீடு செய்யாத DNAவும் பெரும்பாலும், டிரான்ஸ்போஸான்களிலிருந்தே தோன்றி காலப்போக்கில் அடையாளம் தெரியாத அளவிற்கு திடீர்மாற்றம் அடைந்திருக்க வேண்டும்.



படம் 15.1. மனித ஜீனோமின் பல்வேறு வரிசைகள்

வரிசை சிக்கல்கள் (sequence complexity)

மனித ஜீனோம் பல்வேறு நிலை சிக்கல்கள் கொண்டுள்ளது. 60 சதவீத DNA ஒரே ஒரு நகலையும், 30 சதவீத DNA ஓரளவு மீண்டும் மீண்டும் தோன்றும் நகல்களையும், 10 சதவீத DNA மிக அதிகமாய், மீண்டும் மீண்டும் தோன்றும் நகல்களையும் கொண்டுள்ளன.

பட்டை அமைப்பு முறைகள் DNA அமைந்திருக்கும் பகுதிகளைத் தெளிவாக்குகிறது. C-பட்டை அமைப்பு முறை மூலம் கிடைக்கும் கருமையான பட்டைகள் (C-பட்டைகள்) ஹெட்டிரோ குரோமேட்டின் எனப்படுகின்றன. இப்பகுதி மிகவும் சுருண்டு அதிக

அளவில் திரும்ப திரும்ப காணப்படும் DNAவைக் கொண்டுள்ளது. இது சென்ட்ரோமியர், டீலோமியர், குரோமோசோம் எண் 7 ஆகியவற்றில் காணப்படும். அவற்றில் மீண்டும் மீண்டும் தோன்றும் நீள் வரிசைகள் காணப்படுவதால் அவை ஜீனோமின் மற்ற பகுதியிலிருந்து வேறுபடுகின்றன.

G-பட்டை அமைப்பு முறையைப் பயன்படுத்தி கிடைக்கும் அடர் மற்றும் வெளிர் பட்டைகள், பேஸ்களின் கூட்டமைப்பு, இரட்டித்தல் நேரம் ஜீன்களின் அடர்வு மற்றும் திரும்பத் திரும்ப தோன்றும் வரிசைகள் ஆகியவற்றையும் குறிக்கும். G-பட்டைகள் எனப்படும் அடர் பட்டைகள் அதிக அடர்வுடன் AT-அதிகமாக, குறைந்த ஜீன்கள் கொண்டு வெளிர் பட்டைகள் இரட்டடித்த பின், இரட்டிக்கும் பண்புகளைக் கொண்டது.

வரிசையமைப்பு முறைகளைப் பயன்படுத்தி மனித ஜீனோமை பெரிய DNA துண்டுகளாகப் பிரிக்கலாம்(>7300kb). இவை **ஐஸோகோர்** (isochore-ஒரே மாதிரியான குரோமோசோம்) எனப்படும். L1 மற்றும் L2 குறைந்த GC கொண்ட (கனமற்ற) குடும்பங்கள். இவை ஜீனோம்களின் 62 சதவீதமாகும். H1, H2 மற்றும் H3 (கனமான) ஐஸோகோர் வகுப்புகள் அதிக GC கொண்டவை.

ஐந்து குரோமோசோம்களை (13,14,15,21,22) அவற்றின் முனை யிலுள்ள சிறுபாலம், பாலத்தின் இறுதியிலுள்ள உருண்டை முனை ஆகியவற்றைக் கொண்டு வேறுபடுத்தலாம். இந்த உருண்டை முனை, குரோமோசோம் சாட்டிலைட்டுகள் எனப்படுகின்றன. இவை rRNA மற்றும் ரிபோசோம் புரதங்களைக் குறிக்கும் பல திரும்ப திரும்பக் காணப்படும் ஜீன்களைக் கொண்டுள்ளது.

மனித ஜீன் எண்ணிக்கை

கிட்டத்தட்ட 24,000 ஜீன்கள் இருப்பதாய் மனித ஜீனோம் திட்டம் அறிவித்துள்ளது. இருப்பினும் மிகச்சரியான எண்ணிக்கையைக் கணக்கிட இன்னும் சில காலமாகலாம்.

எக்ஸான் பண்புகள்

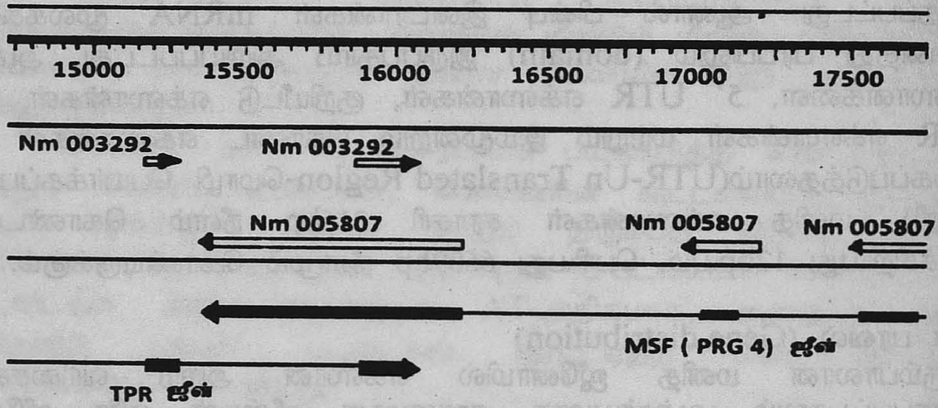
பொரும்பாலான மனித ஜீன்களில், குறியீட்டு பகுதிகட்கு இடையே நீண்ட குறியீடற்றப் பகுதி காணப்படும். அவை mRNA பதப்படுத்தலின் போது வெட்டி நீக்கப்படும். இந்த குறியீடற்ற பகுதி இன்ட்ரான் எனவும், குறியீட்டுப் பகுதிகள் எக்ஸான் எனவும் அழைக்கப்படுகின்றன. ஆனால் இயற்கையில் எதுவுமே வீண் இல்லை என்ற நியதிப்படி, சில இன்ட்ரான்கள் முக்கிய தகவல்களையும், மற்ற சில, முழு ஜீன்களை குறிக்கும் பகுதிகளாகவும் உள்ளன. முதலில் இன்ட்ரான்கள் mRNAவில் பொழிபெயர்க்கப்படாத பகுதிகளில் மட்டுமே இருப்பதாய்

கருதப்பட்டு, குறியீட்டு பகுதிகட்கு இடையே அவை இல்லை எனக் கருதப்பட்டது. ஆனால் பின்பு இன்ட்ரான்கள் mRNA மூலக்கூறின் அனைத்து பரப்பிலும் (domain) இருப்பதாய் அறியப்பட்டது. ஆகவே எக்ஸான்களை, 5' UTR எக்ஸான்கள், குறியீட்டு எக்ஸான்கள், 3' UTR எக்ஸான்கள் மற்றும் இம்மூன்றும் கொண்ட எக்ஸான்கள் என வகைப்படுத்தலாம்(UTR-Un Translated Region-மொழி பெயர்க்கப்படாத பகுதி). மனித எக்ஸான்கள் சராசரி 216bp நீளம் கொண்டவை. மிகச்சிறியது 12bpயும், பெரியது 6609bp நீளமும் கொண்டிருக்கும்.

ஜீன் பரவல் (Gene distribution)

பெரும்பாலான மனித ஜீனோமில் எக்ஸான் அற்ற வரிசைகளே காணப்பட்டாலும் ஆச்சர்யமாக ஏராளமான ஜீன்கள் ஒரே ஜீனோம் இடத்தையே ஆக்கிரமித்துள்ளன. கிட்டத்தட்ட 6 சதவீத மனித ஜீன்கள் மற்ற ஜீன்களின் இன்ட்ரான்களில் காணப்படுகின்றன. உதாரணமாக NF1 ஜீனின் இன்ட்ரானில், மற்ற 3 ஜீன்கள் காணப்படுகின்றன. இந்த 3 ஜீன்களும் தம்முடைய சொந்த இன்ட்ரான்களைக் கொண்டுள்ளன. மேலும் 100-க்கும் அதிகமான ஜீன் ஜோடிகள் 3' முனையில் ஒன்றின் மேல் ஒன்று ஏறி காணப்படுகிறது. குரோமோசோம் 1-ல் TPR மற்றும் MSF ஜீன்கள் ஒரே இடத்தில் காணப்படுகின்றன. TPR ஜீனின் கடைசி எக்ஸான் 872nt (நியூக்ளியோடைட்) நீளம் கொண்டது. இது MSF ஜீனின் (200nt) கடைசி எக்ஸான் மீது முழுவதும் ஏறி இருக்கும். MSF ஜீனின் கடைசி முனை TPR ஜீனின் இன்ட்ரான் மீது மேல் ஏறி இருக்கும். (படம் 15.2.).

மனிதன் ஜீனோமின் பெரும்பாலான பகுதிகள் இன்ட்ரான்கள் தான். இருப்பினும், ஜீனோம் முழுக்க ஜீன்கள் ஒரே சீராக பரவி இருப்பதில்லை. அதிக GC (GC richness) க்கும் ஜீன் அடர்வுக்கும் தொடர்புண்டு. பெரும்பாலான ஜீன்கள் CpG தீவுகள் (pஎன்பது சைட்டோசின் மற்றும் குவானைனுக்கு இடையே உள்ள பாஸ்போடையெஸ்டர் பிணைப்பைக் குறிக்கும்), அருகிலேயே காணப்படுகிறது. பெரும்பாலான **'பராமரிக்கும் ஜீன்கள்'** (house keeping genes) மற்றும் திசு குறிப்பு (tissue specific) ஜீன்களின் பக்கவாட்டில் 500-1000bp ஜீன் அதிக GC பகுதி காணப்படுகிறது. CpG தீவுகள் ஜீனோமில் ஜீன் குறைவான, ஜீன் அதிகமான பகுதிகள் இருப்பதைத் தெளிவாக்குகிறது. இதன் விளைவாக பாதிக்கும் மேற்பட்ட மனித ஜீன்கள் "ஜீனோம் மையம்" (genomic core) (H_2, H3 ஐஸோகோர்கள்) என்ற பகுதியிலேயே காணப்படுவதாய் கருதப்படுகிறது. இது மனித ஜீனோமின் 12 சதவீதம் மட்டும்தான்.



படம் 15.2. ஒன்றன் மேல் ஒன்று ஏறிய ஜீன்களுக்கு உதாரணம் மனித குரோமோசோம் 1-ன் ஜீன் வரிசை
(Gene Bank accession No : AL 13-3533)

பல ஜீன் குடும்பங்கள் (Multigene Families)

பல யூகேரியோட் நியூக்ளியஸில் உள்ள ஜீனோம்களின் பெரும் பகுதி திரும்பத் திரும்பக் காணப்படும் DNA வரிசைகளைக் கொண்டுள்ளது. இந் மாதரியான DNAவில் (1) நீண்ட இன்ட்ரான் வரிசைகள் (2) பொய் ஜீன்கள் (3) 'RNA மட்டும் ஜீன்கள்' (குறிக்கப்படாத RNA (ncRNA) உற்பத்திக்கு பயன்படுபவை) (4) பல ஜீன் குடும்பங்கள் ஆகியவை காணப்படுகின்றன. பல ஜீன் குடும்பங்கள் ஒவ்வொன்றும் ஒன்று அல்லது அதிக ஜீன்களின் பல நகல்களைக் குறிக்கும்.

பொதுவாய் அவை உயிர் வேதியில் அமைப்புப்படி ஒரே மாதிரியாய் இருக்கும். ஜீன் குடும்பங்கள் பரிணாமத்தில் பலகாலங்களில் ஜீன் இரட்டித்தல் மூலம் தோன்றின. பொதுவாய் ஒரே மாதிரியாய் உள்ள ஜீன்கள் ஒரே மூதாதையரிடமிருந்து தோன்றி இருக்க வேண்டும். அதே சமயம் **ஜீன் மாற்றங்கள்** (gene conversion) கூட ஜீன் இரட்டித்தல் போன்ற **தோற்றத்தைத்** தரக்கூடும். ஜீன் இரட்டித்தல் பல முறைகளால் ஏற்படலாம். உதாரணமாக சமமற்ற மறுஇணைவு அல்லது **பின் அமைவு** (retro position) (பின் அமைவு என்பது mRNA தலைகீழாய் படிஎடுக்கப்பட்டு மீண்டும் ஜீனோமுடன் திரும்ப இணைவதாகும்). இரட்டித்த எல்லா ஜீன்களுமே செயல்பாடு கொண்டதாய் இருந்திருக்காது. சில, மரபியல் வழக்கொழிந்துபோய் பொய் ஜீன்களாகி விடும். சில பொய் ஜீன்கள் பரிணாமத்தில் ஒரு புரமோட்டரையும், ஒழுங்குபடுத்தும் அமைப்புகளையும் பிடித்து மரபியல் சாவிலிருந்து மீண்டுவிடுகிறது. உதாரணமாக 200 மில்லியன்

வருடங்கள் அமைதியாய் இருந்தபின் ஒரு Alu அமைப்பால் (Alu element) குளோபின் ஜீன் மீட்கப்பட்டது (Alu அமைப்பு என்பது Alu ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதியால் வேறுபடுத்திக் காட்டப்பட்ட சிறு DNA துண்டு).

ஏன் பல ஜீன் குடும்பங்கள்?

செல்களுக்கு சில புரதங்கள் குறைந்த அளவு தேவைப்படலாம், ஆனால் வேறு சில புரதங்கள் அதிக அளவில் தேவைப்படலாம். இந்த அதிக தேவை கீழ்கண்ட ஏதாவது ஒரு வழியில் பூர்த்தி செய்யப்படும். (1) சில சமயம் ஒரே ஒரு ஜீன் மீண்டும் மீண்டும் படி எடுக்கப்பட்டு, ஏராளமான mRNA மூலக்கூறுகள் உருவாகும். இம்மூலக்கூறுகள் வார்ப்பாக செயல்பட்டு திரும்ப திரும்ப ஏராளமான புரதங்கள் உருவாக்கப்பட உதவும். உதாரணமாக பட்டுப்புழு புரதமான பைப்ராயினைக் குறிக்க ஒரே ஒரு ஜீன் மாத்திரம் காணப்பட்டாலும், இது தொடர்ந்து ஏராளமான பட்டு உற்பத்திக்குக் காரணமாகிறது. இது போல ஹீமோகுளோபினை உற்பத்தி செய்யும் செல்லில், அதற்கான ஒரே ஜீன் மாத்திரமே காணப்பட்டாலும் ஏராளமான அளவில் ஹீமோகுளோபினின் α அல்லது β பாலிபெப்டைட் சங்கிலிகள் உற்பத்தி செய்யப்படுகிறன (2) மற்றவைகளில் ஒரே செல்லில் ஒரு ஜீனின் பல நகல்கள் காணப்படுகின்றன. இவையாவும் ஒரு செல்லினுள் படி எடுத்தலில் பங்கேற்று, ஏராளமான ஜீன் பொருட்களை உற்பத்தி செய்யும். உதாரணமாக ரிபோசோம் RNA ஜீன்கள், ஹிஸ்டோன் ஜீன்கள், tRNA ஜீன்கள், வெப்ப அதிர்ச்சி (heat shock) புரத ஜீன்கள், snRNA (சிறு நியூக்ளியார் RNA) ஜீன்கள்; ஆக்டின் ஜீன்கள் போன்றவை.

பல ஜீன் குடும்பங்களை எவ்வாறு அடையாளம் காண்பது?

செல்லிலுள்ள DNAவை சிதைத்து எலக்ட்ரோபோரசிஸிற்கு உட்படுத்தி அதனுடன் எந்த ஜீன் வரிசையை ஆராய்கிறோமோ அந்த ஜீனின் rRNA அல்லது mRNAவை கதிர்வீச்சு பூசி, கலப்பினத்தில் ஈடுபடுத்த வேண்டும். இப்போது உருவாகும் DNA-RNA கலப்பின மூலக்கூறுகளை கணக்கிட வேண்டும். இது போன்ற சோதனையை ஒற்றை நகல் ஜீன்களிலும் செய்து கலப்பின மூலக்கூறுகளின் எண்ணிக்கையைக் கணக்கிட வேண்டும். இப்போது இரண்டையும் ஒப்பிட்டுப் பார்க்கும்போது முதல் சோதனையில் காணப்படும் கலப்பின மூலக்கூறுகளின் பல நகல்கள், பல ஜீன் குடும்பங்கள் இருப்பதைப் புலப்படுத்தும்.

பல ஜீன் குடும்ப வகைகள்

ஒரு, பல ஜீன் குடும்பம் ஒரே மாதிரியான தொகுதியாகும், ஆனால் ஒரே மாதிரியான வரிசைகளைக் கொண்டிருக்க வேண்டும் என்ற அவசியம் இல்லாதவை ஒவ்வொரு வரிசையும் ஒரு ஜீனைக் குறிக்கும், அதன் காரணமாக ஜீன், பல நகல்களில் காணப்படும். ஒழுங்குபடுத்தப்பட்ட பணிகளின் அடிப்படையில் அவை மூன்று வகைகளாகப் பிரிக்கப்படுகின்றன,

(1) ஒரு பல ஜீன் குடும்பத்தின் பல உறுப்பினர்கள், ஒரே மாதிரியாய் இல்லாவிடில், ஒரு குறிப்பிட்ட நேரத்தில் பல திசுக்களில் பணியாற்றும் அல்லது அதே திசுவில் வெவ்வேறு நேரத்தில் பணியாற்றும். இம்மாதிரியான பல ஜீன் குடும்பத்தின் பல்வேறு உறுப்பினர்களின் திசு குறித்த அல்லது நேரம் குறித்த செயல்பாடுகளை ஒழுங்குபடுத்த ஒரு தொழில்நுட்பம் காணப்படும். உதாரணம் குளோபின் ஜீன்கள்,

(2) மற்றவற்றில், ஒரு பல ஜீன் குடும்பத்தின் அனைத்து உறுப்பினர்களும், ஒரு குறிப்பிட்ட திசுவிலோ அல்லது குறிப்பிட்ட நேரத்திலோ செயல்படலாம். ஆனால் அனைத்து உறுப்பினர்களும், ஜீன் பொருட்களின் ஏராளமான தேவையைப் பூர்த்தி செய்ய ஒரே செல்லில் பணியாற்றும். உதாரணமாக வெப்ப அதிர்ச்சியின்போது செயல்படும் வெப்ப அதிர்ச்சி ஜீன்கள் மற்றும் விதை உருவாக்கத்தின் போது வெளிப்படும், சேமிப்பு புரத ஜீன்கள்,

(3) மேலும் சிலவற்றில் பல ஜீன் குடும்பங்களின் உறுப்பினர்கள், அனைத்து செல்களில் அனைத்து சமயங்களிலும் செயல்படும். உதாரணமாக rRNA ஜீன்கள் அல்லது snRNA ஜீன்கள்.

அமைப்பு ஒற்றுமையின் அடிப்படையில் பல ஜீன் குடும்பம் இருவழிகளில் வகைப்படுத்தப்படுகிறது,

(1)வெவ்வேறு உறுப்பினர்களைக் கொண்ட பல ஜீன் குடும்பங்கள்

(2)ஒரே மாதிரியான உறுப்பினர்களைக் கொண்ட பல ஜீன் குடும்பங்கள்.

வெவ்வேறு உறுப்பினர்கள் கொண்ட பல ஜீன் குடும்பங்கள்: மனித ஜீனோமின் குளோபின் ஜீன் குடும்பம்

மனிதன் பெரியவனான பின் ஹீமோகுளோபின் α மற்றும் β பாலிபெப்டைட் சங்கிலிகளைக் குறிக்க ஒரே ஒரு ஜீன் மாத்திரம் காணப்பட்டாலும், கரு வளர்ச்சியின்போது β குளோபின் ஜீன்களின் ஒரு குடும்பமும், α குளோபின் ஜீன்களின் ஒரு குடும்பமும் பணியாற்றுகின்றன. கரு வளர்ச்சியின்போது, குழந்தை பிறக்கும் வரை இந்த ஜீன்கள் தேவைப்படும்போது செயல்படுகின்றன (on), தேவைப்படாதபோது செயல்படுவதில்லை (off). வளர்ச்சியின் பல்வேறு நிலைகளில் காணப்படும் ஹீமோகுளோபினின் கூறுகள் அட்டவணை

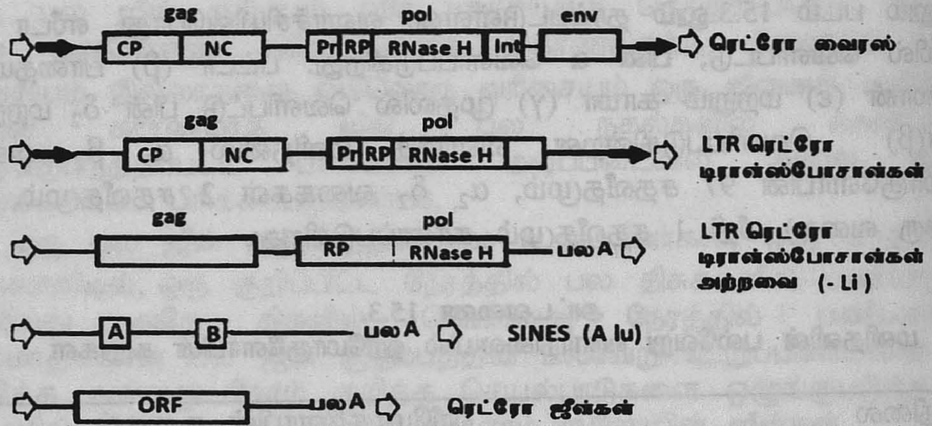
15.3.லும் படம் 15.3.லும் தரப்பட்டுள்ளன. வளர்ச்சியின்போது, ஸீடா (ζ) முதலில் வெளிபட்டு, பின் α வெளிப்படுகிறது. பீட்டா (β) பாதையில் எப்சிலான் (ε) மற்றும் காமா (γ) முதலில் வெளிபட்டு பின் δ_2 மற்றும் பீட்டா(β) வெளிப்படுகின்றன. வளர்ந்த மனிதனில் α_2 β_2 வகை ஹீமோகுளோபின் 97 சதவீதமும், α_2, δ_2 வகைகள் 2 சதவீதமும், α_2 γ_2 (கரு வகை) மீதி 1 சதவீதமும் காணப்படுகிறது.

அட்டவணை 15.3.
மனிதனின் பல்வேறு வளர்நிலையில் ஹீமோகுளோபின் கூறுகள்

வளர்நிலை	ஹீமோகுளோபின் கூறுகள்
1. கருநிலை (8வாரம் வரை)	ζ_2 ε_2 $\sum_2$ γ_2 α_2 $\sum_2$
2. குழந்தை	α_2 γ_2
3. வளர்ந்த மனிதன்	α_2 β_2 α_2 δ_2

மனிதனில் α போன்ற குளோபின் ஜீன்கள் குரோமோசோம் 16லும், β போன்ற குளோபின் ஜீன்கள் குரோமோசோம்11லும் காணப்படுகின்றன. ஜீன்கட்கு இடையே இடைவெளி (spacer) பகுதிகள் காணப்படுகின்றன (இவை படி எடுக்கப்படுவதில்லை). மேலும் குளோபின் ஜீன்களுக்கு உறவான பொய் ஜீன்களும் காணப்படுகின்றன. இவையும் படி எடுக்கப்படுவதில்லை. இந்த வரிசைகளில், குறியீட்டு பகுதிகள் குறைந்த வேறுபாடுகளே கொண்டுள்ளன. ஆனால் ஜீன்களுக்கிடையேயான இடைவெளிகள் பெரும் வேறுபாடுகளைக் கொண்டுள்ளன. இதற்கான விளக்கம் என்னவெனில் புரதப்பணி பளு இதை குறியீட்டு பகுதி பரிணமித்தலுக்கு தடையாக உள்ளது. ஆனால் இம்மாதிரியான தடை இல்லாததால் இடைவெளிப் பகுதிகள் வேகமாக பரிணமிக்கின்றன.

வகுப்பு I



வகுப்பு II



படம் 15.3. பல்வேறு மனித இடம் மாறும் கூறுகள்

யூகேரியோட்டுகளில், உதாரணமாக பாலூட்டிகளில் ஆக்டின் ஜீன் குடும்பம், ஆல்புமின் மற்றும் பீடா புரத குடும்பம், செரின் புரோடியேஸ் குடும்பம், கோரியான் புரதங்கள் குடும்பம் ஆகியவை வெவ்வேறு உறுப்பினர்கள் கொண்ட பல ஜீன் குடும்பங்கட்கு மற்ற உதாரணங்கள் ஆகும்.

ஒரே மாதிரியான ஜீன்களைக் கொண்ட பல ஜீன் குடும்பங்கள்: சிலவற்றில், அதிக அளவில் ஜீன் பொருட்கள் உருவாக வேண்டுமெனில், ஒரே மாதிரியான ஜீன்களின் பல நகல்கள் தேவைப்படும். இந்த ஜீன்கள், திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் அலகுகளாக, ஒவ்வொன்றும் (1) ஒரு குறியீட்டுப் பகுதியை கொண்டிருக்கும். இது பழமை மாறாமல் (conserved) ஒரே மாதிரியான ஜீன் பொருட்களை உற்பத்தி செய்யும் மற்றும் (2) ஒரு இடைவெளிபகுதி கொண்டிருக்கும். இப்பகுதி தம்முள் வேறுபாடுகளைக் (divergence) கொண்டிருக்கும்.

ஹிஸ்டோன் ஜீன்களின் பல நகல்கள்

ஐந்து பெரிய ஹிஸ்டோன் புரதங்களான H_1, H_2A, H_2B, H_3, H_4 ஆகியவை குரோமாடின் சிற்றலகான நியூக்ளியோசோம்களில் DNAவை அடைத்து வைக்கும் பணியில் ஈடுபடுகின்றன. செல் சுழற்சியின் நிலையில் DNA இரட்டிக்கும் போது, பெரிய அளவில் இந்த ஹிஸ்டோன் புரதங்கள் தேவைப்படும். இந்த தேவைகளைப் பூர்த்தி செய்ய ஒவ்வொரு ஹிஸ்டோன் ஜீன்களுக்கும், (1) பறவைகளிலும் பாலூட்டிகளிலம் 10-20 நகல்களும் (2) கடல் அர்ச்சின் மற்றும் நியூட்டில் (இருவாழ்வி) 600-800 நகல்களும் காணப்படுகின்றன. இருவாழ்விகளில் அதிக எண்ணிக்கையில் காணப்படுவதற்குக் காரணம் அவற்றில் வேகமாக நடைபெறும் செல் பிரிதலின் தேவையைப் பூர்த்தி செய்வதற்குத்தான். ஐந்து ஹிஸ்டோன்களுக்கான ஐந்து ஜீன்கள் ஒரு அடிப்படை அலகாக திரும்பத் திரும்ப காணப்படுகின்றன. ஆனாலும் ஒவ்வொரு அலகிலும் உள்ள வெவ்வேறு ஜீன்கள் வெவ்வேறு திசையில் காணப்படும். ஒவ்வொரு அலகிலும் காணப்படும் இந்த ஜீன்கள் (குறியீட்டு வரிசைகள்) பழமை மாறாமல் அப்படியே காணப்படுகின்றன. ஆனால் இடைவெளிப் பகுதி வெவ்வேறு உயிரிகளில் வெவ்வேறாக வேறுபடும். மற்ற யூகேரியோட் ஜீன்களை ஒப்பிடும்போது முக்கியமான அம்சம் ஹிஸ்டோன் ஜீன்களில் இன்ட்ரான்களும் இல்லை, பல A வால்களும் இல்லை என்பதுதான்.

ஒவ்வொரு வளர் நிலையில் வெளிப்படும் தன்மை ஒவ்வொரு திசுவிலும் வெளிப்படும் தன்மை ஆகியவற்றைப் பொருத்து ஹிஸ்டோன் ஜீன்கள் 4 வகுப்புகளாகப் பிரிக்கப்பட்டுள்ளன, (1) துவக்க ஹிஸ்டோன் ஜீன்கள் (அண்டமாக்கத்தின் கடைசி பகுதியிலிருந்து பிளாஸ்டுலா நிலைவரை இவை செயல்படும்), (2)பிளவிப்பெருக்க நிலை ஹிஸ்டோன் ஜீன்கள் (கருவுறுதலுக்குப் பின் வெளிப்படும்), (3) பின் ஹிஸ்டோன் ஜீன்கள் (ப்ளாஸ்டுலா நிலைக்குப் பின் செயல்படும்), (4) விந்தணு ஹிஸ்டோன் ஜீன்கள் (விந்தணு ஆக்கத்தின் போது மட்டுமே வெளிப்படும்).

ரிபோசோம் RNA (rRNA)ஜீன்கள்

யூகேரியோட்டுகளின் ஒவ்வொரு செல்லிலும் தேவைப்படும் 10 மில்லியன் ரிபோசோம்களை உருவாக்க, rRNA ஜீன்கள், குரோமோசோமின் சாட்டிலைட் பகுதியில் உள்ள நியூக்ளியோலார் அமைப்பு பகுதிகளில் (NOR) பல நகல்களில் காணப்படும். இந்த ஜீன்களின் எண்ணிக்கை ஒவ்வொரு செல்லிலும் 50-30,000 வரை இருக்கலாம். இந்த ஜீன்களைக் கொண்ட DNA, rDNA எனப்படும். இவை திரும்பத் திரும்ப காணப்படும்.

tRNA பல ஜீன் குடும்பங்கள்

ஒவ்வொரு வெவ்வேறு tRNAக்களுக்கான ஜீன்கள் பல நகல்களில் காணப்படுகின்றன. இதற்குக் காரணம் ஏராளமான எண்ணிக்கையில் செல் tRNA மூலக்கூறுகளை உற்பத்தி செய்ய வேண்டிய அவசியத்தை பூர்த்தி செய்யத்தான். ஒரு ஹாப்ளாய்ட் ஜீனோமில் ஒவ்வொரு ஜீனோமுக்கும் 10 முதல் பல நூறு ஜீன்கள் காணப்படும்.

திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் சிறு நியூக்ளியஸ் RNA (snRNA)

sn RNA-க்கள் திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் ஒரே மாதிரியான பல ஜீன்களால் குறிக்கப்படுகின்றன. இவை சிறு நியூக்ளியஸ் ரிபோநியூக்ளியோடைட்களின் (snRNA) உற்பத்திக்குக் காரணமாகின்றன. மேலும் இவை RNA பதப்படுத்தலில் பங்கேற்கிறது.

பெரும் திசுவமைப்பு கூட்டு (Major Histocompatability Complex - MHC) **மற்றும் இம்யூனோகுளோபின் ஜீன்கள்:** பெரும் திசு கூட்டடைப்புக்கும், இம்யூனோகுளோபுலினுக்கும்(ஆண்டிபாடி) காரணமான ஜீன்களும் பல ஜீன் குடும்பங்களைக் கொண்டவை.

நுகர்ச்சி உணர் (OR – Olfactory Receptor) ஜீன்கள்

G-புரதங்களைக் குறிக்கும் இவை பாலூட்டிகளிலேயே பெரிய பல ஜீன் குடும்பத்தைச் சார்ந்தது. மனிதனில் 8000 ஜீன்களும் சுண்டெலி ஜீனோமில் 1460 ஜீன்களும் காணப்படும்.

பல ஜீன் குடும்பங்களின் பரிணாமம்

பல ஜீன் குடும்ப ஜீன்களின் தோற்றத்தை விளக்க மூன்று மாதிரிகள் உள்ளன.

1. *விரி பரிணாமம்:* இரட்டிப்பான ஜீன்களின் (duplicate) விரிவாக்கமே பல ஜீன் குடும்பங்களின் தோற்றத்திற்கு காரணம் என இம்மாதரி விவாதிக்கிறது.

2. *ஒருமுகப்படுத்தப்பட்ட* (concerted) *பரிணாமம்:* ரிபோசோம் RNA ஜீன்களில் வேறுபாடுகள் காணப்படாமை அவற்றின் பரிணாமத்திற்குக் காரணம் என இம்மாதிரி கூறுகிறது.

3. *பிறப்பு மற்றும் இறப்பு பரிணாமம்:* பெரும் திசுவமைப்பு கூட்டு பல ஜீன் குடும்பங்களின் தோற்றத்தை விளக்கிய இம்மாதிரி, புது ஜீன்கள்

இரட்டித்தல் மூலம் தோன்றுவதாலும், சில இழத்தல் அல்லது பணியில்லாமை காரணங்களால் மறைந்து போவதாலுமே பல ஜீன் குடும்பங்கள் தோன்றின எனக் கூறுகிறது. உண்மையில் இம்மூன்று மாதிரிகளுமே பல்வேறு பல ஜீன் குடும்பங்களின் பரிணாமங்களுக்குக் காரணங்களாக அமைகின்றன.

நுண் சாட்டிலைட்டுகள், சிறு சாட்டிலைட்டுகள், பெரும் சாட்டிலைட்டுகள்

4bp அல்லது அதற்குக் குறைவான நீளம் கொண்ட எளிய சிறிய அடுத்தடுத்து திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் வரிசைகள் நுண் சாட்டிலைட்டுகள் ஆகும். சிறு சாட்டிலைட்டுகள 1 kbp முதல் /15kbp DNA நீளம் வரையுள்ள பகுதிகள் அடுத்தடுத்து திரும்ப திரும்ப காணப்படுகிறது.

நகரும் கூறுகள் / டிரான்ஸ்போஸான்கள் (Transposable elements/ Transposons)

மனித ஜீனோமில் இடையிடையே திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் வரிசைகள், ஜீனோமில் ஓரிடத்திலிருந்து வேறோர் இடம் பெயர்ந்து தமது நகல் எண்ணிக்கையைப் பெருக்கி கொண்டிருக்கும். இவை நகரும் (இடம் பெயரும்) கூறுகள் அல்லது டிரான்ஸ்போஸான்கள் அல்லது TE எனப்படுகின்றன. அவை இடம்பெயரும் விதம் சார்ந்து இரு வகுப்புகளாகப் பிரிக்கப்படுகின்றன.

வகுப்புI கூறுகள் (ClassI elements) இரட்டித்தல் மூலம் இடம் மாறும். இது எவ்வாறு எனில், ஒரு RNA தலைகீழ் படி எடுக்கப்பட்ட DNAவாக மாறி மீண்டும் ஜீனோமில் இணைகிறது. இவைகட்கு பின்னோக்கி மீண்டும் இணையும் கூறுகள் அல்லது ரெட்ரோ எலிமண்ட்ஸ் என்று பெயர். இதில் அமைப்பில் ரெட்ரோ வைரஸ்களை ஒத்த LTR டிரான்ஸ்போஸான்கள் (நீண்ட முனையில் திரும்பத் திரும்ப காணும் பகுதிகள்-long terminal repeats), LTR அற்ற கூறுகள், அதாவது LINES (long interspersed repetitive elements-நீண்ட இடையிடையே, திரும்ப திரும்ப காணப்படும் கூறுகள்), SINES (short interspersed repetitive elements-குறுகிய இடையிடையே திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் கூறுகள்), ரெட்ரோ ஜீன்கள் ஆகியவை அடங்கும். வகுப்பு-II கூறுகள் வெட்டு மற்றும் ஒட்டு முறைமூலம் நகர்கிறது. அதாவது ஒரு கூறு வெட்டப்பட்டு ஜீனோமில் வேறு ஒரு இடத்தில் நுழைக்கப்படும். வகுப்புI மற்றும் II இடம் பெயரும் கூறுகள் ஒன்றாகும்போது DNAவின் ஒரு சிறு வரிசை இரட்டிக்கப்படுகிறது.

இதுபோன்ற 500 குடும்ப டிரான்ஸ்போஸான்க்ள் உள்ளன. பெரும்பாலான இடம் பெயரல் RNA மூலம் நடப்பதால் இதனால் உண்டாகும் வரிசைகள் ரெட்ரோ எலிமண்ட்கள் என குறிக்கப்படுகின்றன (Alu, L1, ரெட்ரோஜீன்கள், MIR போன்ற 400-க்கு மேற்பட்ட குடும்பங்கள்). இருப்பினும் DNA மூலமே இடம்பெயர்வதும் உண்டு. இவ்வகையில் வகுப்பு IIஐ சார்ந்த 60 குடும்ப டிரான்ஸ்போஸான்கள் உள்ளன. உதாரணம் THE-1, சார்லி, டிக்கர், மரைனர்.

ரெட்ரோ எலிமண்ட்கள்

மனிதனில் LINES,SINES ஆகியவை இருபெரிய அதிகமாய் திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் வகுப்புகளாகும். இவையிரண்டுமே ஒரு A-அதிகமான 3'முனையையும், நீண்ட முனையில் திரும்பத் திரும்ப காணப்படாத அமைப்புகளையும் பொதுவாய் கொண்டிருக்கும். இப்பண்புகள் அவற்றை ரெட்ரோ வைரஸ்களிலிருந்து வேறுபடுத்துகின்றன. ஒரு முழு நீள LINE (L1 கூறு) கிட்டத்தட்ட 6.1kbp நீளம் கொண்டது. மனித ஜீனோமில் 100,000 நகல் L1 வரிசைகள் காணப்படுகின்றன. ஒவ்வொரு LINEம் ஒரு பல A வால் கொண்டது.

SINE குடும்பத்தின் Alu கூறு மனித ஜீனோமில் 500,000 - 900,000 நகல்களைக் கொண்டுள்ளன. 7SL RNA ஜீனிலிருந்து இந்த திரும்ப திரும்பத் காணப்படும் பகுதிகள் பெறப்பட்டன. ஓவ்வொரு Alu கூறும் 280bp நீளத்துடன், RNA பாலிமரேஸ்III புரோமோட்டர் வரிசையைக் கொண்டு, அதிக A-பகுதிகளைக் கொண்டிருக்கும்.

வகுப்புII கூறுகள் தமது முனையில் தலைகீழ், திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் பகுதிகளைக் (10-500bp) கொண்டுள்ளது. இது ஒரு டிரான்போஸேஸ் நொதியைக் குறிக்கிறது. இந்நொதி இடம் பெயரலைத் தூண்டுகிறது. அவை வெட்டி வேறொரு இடத்தில் இணைகிறது. நமது ஜீனோமில் காணப்படும் மரைனர் படிமம் (mariner fossil) பூச்சிகளில் கண்டுபிடிக்கப்பட்டுள்ள மூன்று உப குடும்பங்களை ஒத்துள்ளன. இது கிடைமட்ட (horizontal) திசையில் ஜீனோம்கட்கு இடையேயான பரிமாற்றம், ஜீனோம் பரிணாமத்திற்கு ஒரு முக்கிய காரணி என்ற கருத்தை வலுவூட்டுகிறது. மற்ற மனித DNA டிரான்ஸ்போஸான்கள் வெவ்வேறு உயிரிகளின் DNA வரிசைகளை ஒத்து காணப்படுகிறது. இருந்தபோதிலும் மனித பரிணாமத்திற்கு முன்பே இந்த வரிசை வேறுபாடுகள் நிகழ்ந்திருக்க வேண்டும் என்று கருதப்படுகிறது.

மனித ஜீனோம் ஒரு செயல்திறமிக்க அமைப்பு. இதில் பல புதிய கூறுகள் தோன்றுகின்றன, பல பழைய கூறுகள் மறைகின்றன. ஜீன்களும் 'பிறப்பு இறப்பு விதி'யைப் பின்பற்றி இன (species) பரிணாமம் போல் பரிணமிக்கின்றன. பரிணாமம் என்பது உலகளாவியது. அது உயிரிகளில் மாத்திரமல்ல, உயிரிகளின் எல்லா நிலைகளிலும் நடைபெறுகிறது.

16. மனித ஜீனோம் வரைபடம், வரிசைப்படுத்தும் தொழில்நுட்பங்கள், மனித ஜீனோம் திட்டம்

(Mapping Strategies of Human Genome, Sequencing Technologies of Human Genome, Human Genome Project)



மனித குல மேம்பாட்டிற்கு, மனித மரபியல் (human genetics) ஆய்வுகள் பெருமளவில் நடத்தப்படுகிறது. இதன் இறுதி நோக்கம் அனைத்து ஜீன்களின் தன்மையை கண்டறிந்து, அதன்மூலம் மனிதகுலத்திற்கு சவாலான அனைத்து நோய்களையும் குணப்படுத்த முயல்வதுதான். இந்த நோக்கத்திற்கு தயாரிக்கப்பட்ட மனித ஜீனோம் திட்டத்தின் (human genome project) வழிமுறைகள் முதலில், மனித ஜீனோம்களின் வரைபடம் தயாரித்தல் (mapping human genome) பின்பு அந்த ஜீனோமிலுள்ள பேஸ் வரிசையை கண்டறிந்து இந்த தகவல்களை மனித உயிரியல் மற்றும் மருத்துவத்திற்கு பயன்படுத்துவதற்கான சாதனங்களை (tools) கண்டறிவதுதான். ஆகவே இந்த அத்தியாயத்தில்,

1.மனித ஜீனோம் வரைபடம் தயாரிப்பு தொழில்நுட்பம்
(Mapping Strategies of Human Genome)

2.மனித ஜீனோமை வரிசைப்படுத்தும் தொழில்நுட்பங்கள்
(Sequencing Technologies of Human)

3.மனித ஜீனோம் திட்டம்
(Human Genome Project)

ஆகியவற்றைப் பற்றி விரிவாகப் படிப்போம்.

மனித ஜீனோம் வரைபடம் தயாரிப்பு தொழில்நுட்பம்
(Mapping Strategies of Human Genome)

மனித ஜீனோம் திட்டத்தின் முக்கிய குறிக்கோள் மனிதனின் ஒவ்வொரு குரோமோசோமின் வரைபடத்தையும் தயாரித்தல் ஆகும். இந்த வரைபடங்கள் மிகக்குறைந்த பகுத்துணர் (resolution) நிலையிலிருந்து மிக அதிகமான பகுத்துணர் நிலைவரை அடுத்தடுத்த நிலைகளில் தயாரிக்கப்படுகிறது. வரைபடம் தயாரிப்பில் முதலில் குரோமோசோம்கள் சிறிய துண்டுகளாக்கப்பட்டு அதன் பண்புகள் அறியப்படுகின்றன. பின்பு அதிலுள்ள ஜீன்கள் குரோமோசோமில் அவற்றிற்குரிய இடங்களில் பொருத்தப்படுகிறது. இதற்கு வரைபடம்

தயாரித்தல் (mapping) என்று பெயர். வரைபடம் தயாரித்த பின் அடுத்தடுத்து அமைந்துள்ள DNA துண்டுகளின் பேஸ் வரிசையைக் கண்டுபிடிப்பது அடுத்த பணியாகும். மனித ஜீனோம் ஆய்வின் இறுதிக் குறிக்கோள் DNA வரிசையிலுள்ள அனைத்து ஜீன்களையும் கண்டறிந்து இந்த தகவல்களை மனித உயிரியல் மற்றும் மருத்துவத்திற்கு பயன்படுத்துவதற்கான சாதனங்களை (tools) கண்டறிவதுதான்.

ஒரு ஜீனோம் வரைபடம், ஒவ்வொரு குரோமோசோமிலும் ஜீன்களும் மற்ற அடையாளக் குறியீடுகளும் (markers) (அடையாளம் காணக்கூடிய DNA வரிசைகள், அடையாளக் குறியீடுகள் எனப்படுகின்றன) எந்த வரிசையில் இருக்க வேண்டும், அவற்றிற்கு இடையே உள்ள இடைவெளிகள் எவ்வளவு இருக்கும் என்பதை விளக்குகிறது. மனித ஜீனோம் வரைபடம் பல பகுத்துணர்தல் நிலைகளில் தயாரிக்கப்படுகிறது. பருவட்டான (coarse) பகுத்துணர் நிலையில் தயாரிக்கப்படுவது **மரபியல் பிணைப்பு வரைபடங்கள்** (genetic linkage maps) ஆகும். இது DNA அடையாளக் குறியீடுகள் (ஜீன்களும் மற்ற அடையாளம் காணக் கூடிய DNA வரிசைகளும்), எவ்வாறு அடுத்த தலைமுறைக்கு கடத்தப்படுகின்றன என்பதைப் பொருத்து குரோமோசோமில் எங்கே அமைந்திருக்கும் என்பதைக் காட்டும். **இயற்பிய வரைபடங்கள்** (physical maps) DNA மூலக்கூற்றின் வேதியல் பண்புகளை விவரிக்கும். மரபியலாளர்கள் மனிதனில் ஏற்கனவே 2300 ஜீன்களின் அமைவிடத்தை இயற்பிய வரைபடங்கள் மூலம் கண்டுபிடித்து ஜீனோமின் அதிக கூருணர் வரைபடங்களை தயாரிக்கத் துவங்கிவிட்டனர்.

மனித ஜீனோம் திட்டத்தின் குறிக்கோள்	கூருணர் அளவு
1. விரிவான மனித ஜீன் வரைபடத்தை தயாரிப்பது	2Mb
2. இயற்பிய வரைபடத்தை தயாரிப்பது	0.1Mb
3. ஜீன்களின் குளோன்களை பெறுவது	5Kb
4. மொத்த வரிசையைத் தீர்மானிப்பது	1bp
5. அனைத்து ஜீன்களையும் கண்டுபிடிப்பது.	

(Mb=மில்லியன் பேஸ் இணைவிகள், Kb=கிலோ பேஸ் இணைவிகள்)

மேலே விவரித்த அனைத்து தகவல்கள் பெறப்பட்டதுமே ஜீன்களின் பணிகள் அறியப்பட்டு, அவற்றை உயிரியல் மருத்துவ பயன்பாடுகளுக்குப் பயன்படுத்தப்படும்.

மனித ஜீனோமின் வரைபடங்கள்

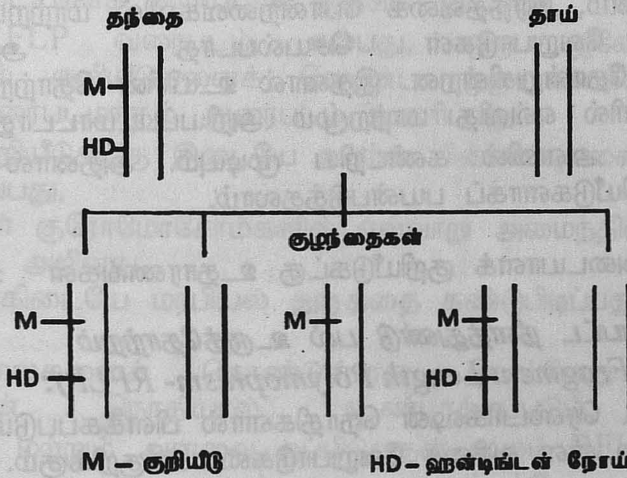
வரைபடத்திட்டங்கள்
மரபியல் பிணைப்பு வரைபடங்கள்
இயற்பிய வரைபடங்கள்
குறைந்த கூறுணர் இயற்பிய வரைபடம் தயாரித்தல்
குரோமோசோம் வரைபடம்
cDNA வரைபடம்
அதிக கூறுணர் இயற்பிய வரைபடம் தயாரித்தல்
பெரும் வரையறு வரைபடங்கள்
மேல்-கீழ் வரைபடம்
காண்டிக் வரைபடங்கள்
கீழ்-மேல் வரைபடம்

மரபியல் பிணைப்பு வரைபடங்கள் (Genetic linkage maps)

ஜீன்கள் குரோமோசோமின் எந்தெந்த குறிப்பிட்ட இடத்தில் காணப்படுகிறது என்பதை வரையறுப்பது ஜீன் வரைபடம் ஆகும். ஒரு மரபியல் பிணைப்பு வரைபடம் என்பது இருவேறு ஜீன் அமைவிடங்கள் எவ்வளவு ஒன்றாக அடிக்கடி கடத்தப்படுகிறது என்பதைப் பொறுத்து தயாரிக்கப்படுவதாகும். அதாவது ஒரு மரபியல் பிணைப்பு வரைபடம் குறிப்பட்ட DNA அடையாளக் குறியீடுகள் குரோமோசோமில் அமைந்திருக்கும் இடங்களைக் காட்டுவதாகும். உயிரிகளிடையே வேறுபடுவதும், சோதனைச் சாலையில் எளிதில் கண்டறியக்கூடியதுமான ஒரு இயற்பிய அல்லது மூலக்கூறு பண்புகள் ஒரு ஆற்றல் மிக்க அடையாளக் குறியீடு ஆகும். அடையாளக் குறியீடுகள் DNA பகுதிகளாகவோ (ஜீன்கள்) அல்லது கடத்தப்படும் முறை பற்றி அறியப்பட்டு, ஆனால் குறியீட்டுப்பணி அற்ற DNA துண்டுகாளகவோ இருக்கலாம். DNA வரிசை வித்தியாசங்கள், பெரிதும் உதவக்கூடிய அடையாளக் குறியீடுகளாகும். ஏனெனில்

அவை ஏராளமாய் உள்ளன. மேலும் அவற்றைத் துல்லியமாகப் பகுத்தறியலாம்.

ஒரே குரோமோசோமில் அருகருகே காணப்படும் இரு ஜீன்கள் அல்லது, அடையாளக் குறியீடுகள் பெற்றோரிடமிருந்து அடுத்த தலைமுறைக்கு ஒன்றாகவே இணைந்து செல்லும். இதற்கு பிணைப்பு (linkage) என்று பெயர். குன்றல் பிரிவின்போது DNA இழைகள் எப்போதாவது உடைந்து, அதே குரோமோசோமின் வெவ்வேறு இடங்களிலோ அல்லது அந்த குரோமோசோமின் இணை குரோமோசோமான, அமைப்பொத்த குரோமோசோமிலோ போய் இணையும். இதற்கு குன்றல் பிரிவு மறுஇணைவு (recombination) என்று பெயர் (படம் 16.1.) படம் 16.1.ல் செங்குத்தான 4 கோடுகள் தாய், தந்தையின் 4 குரோமோசோம்களைக் குறிக்கின்றன. குழந்தைக்கு கடத்தக்கூடிய இரு பண்புகள் தந்தையிடம் உள்ள குரோமோசோமில் உள்ளன. ஒரு சிறு DNA வரிசை மரபியற்குறியீடு (M),மற்றொன்று ஹன்டிங்டன் நோய்க்கானது (HD). ஒரு குழந்தையின் குரோமோசோமில் குறியீடு (M) மாத்திரமே காணப்படுவது, விந்து செல் உற்பத்தியின் போது தந்தையின் மரபுபொருள் மாறி இணைவதைக் காட்டுகிறது. இதன் மூலமாக ஒரு குரோமோசோமில் அமைந்திருந்த இரு அடையாளக்குறியீடுகள் பிரிந்து விடுகின்றன எனத் தெரிகிறது.



படம் 16.1. ஒரு மரபியல் பிணைப்பு வரைபட உருவாக்கம்

ஆனால் குறியீடுகள் ஒரு குரோமோசோமில் அருகருகே மிக நெருக்கமாயிருந்தால் மறு இணைவின் மூலம் அவை பிரிவதற்கான வாய்ப்பு குறைவு. ஒரு குறிப்பிட்ட குறியீடு மற்றொரு குறியீட்டை விட்டுப் பிரிந்து எவ்வளவு அதிகமாகக் கடத்தப்படுகிறதோ அதை வைத்தே மரபியல் வரைபடம் அளக்கப்படுகிறது. இதற்கு மறு

இணைவு நிகழ்வெண் (recombinant frequency) என்று பெயர். ஆகவே மறு இணைவு நிகழ்வெண் இரு குறியீடுகட்கு இடையே உள்ள தூரத்தைக் காட்டுகிறது.

மரபியல் வரைபடத்தில் குறியீடுகட்கு இடையேயான தூரங்கள் சென்டிமார்கன் (cM) என்ற அளவில் அளக்கப்படுகிறது (cM என்பது அமெரிக்க மரபியலாளர் தாமஸ் ஹன்ட் மார்கனை (Thomas Hunt Morgan) சிறப்பிக்க பெயரிடப்பட்டது. ஒரு சதவீத மறு இணைவால் இரு குறியீடுகள் பிரிக்கப்பட்டால் அவையிரண்டும் 1cM தூரத்தில் அமைந்துள்ளன என்று பொருள். 1cM எனும் மரபியல் தூரம் 1 மில்லியன் bp (1Mb) இயற்பிய தூரத்திற்குச்சமம். தற்சமயம் மனித மரபியல் வரைபட பகுதிகளின் கூருணர் தன்மை கிட்டத்தட்ட 10 Mb ஆகும்.

வரைபடம் தயாரிக்க அடையாளக்குறியீடுகள் பல்உருதோற்றம் (polymorphism) கொண்டவையாக இருக்கவேண்டும். அதாவது அவற்றினிடையே வெவ்வேறு மாறுப்பட்ட வடிவங்கள் இருக்கவேண்டும். அதன்மூலம் ஒரே குடும்பத்திலுள்ள நபர்களில் அவற்றை எளிதாகக் கண்டறியலாம். பல்உருத்தோற்றம் என்பது சராசரியாக ஒவ்வொரு 300 முதல் 500pbகட்கு அடுத்துள்ள DNA வரிசைகளில் காணப்படும் வேறுபாடுகள் ஆகும். செயல் அலகுகளான எக்ஸான் வரிசைகளில் ஏற்படும் மாற்றங்களால் எளிதில் கண்டறியக்கூடிய பண்புகளான கண்ணின் வண்ணம், இரத்தவகை போன்றவைகளில் மாற்றம் ஏற்படும். பெரும்பாலான வேறுபாடுகள் செயல்படாத அலகுகளான இன்ட்ரான்களில் தோன்றுகின்றன. இதனால் உயிரின் தோற்ற அமைப்பு அல்லது பணிகளில் எவ்வித மாற்றமும் அறியப்படமாட்டாது. ஆனால் அவற்றை DNA அளவில் கண்டறிய முடியும். அதனால் இவற்றை அடையாளக் குறியீடுகளாகப் பயன்படுத்தலாம்.

இவ்வகையான அடையாளக் குறியீடுகட்கு உதாரணங்கள் :

(1) ***வரையறுக்கப்பட்ட நீளத்துண்டு பல் உருத்தோற்றம் (Restriction Fragment Length Polymophism- RFLP):***
இவை, DNA ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதிகளால் பிளக்கப்படும் DNA இடங்களில் உள்ள வரிசை வேறுபாடுகளைக் குறிக்கும்.

(2) ***அங்கொன்றும் இங்கொன்றுமாக, திரும்பத் திரும்ப(random repeats) காணப்படும் வரிசைகளின் எண்ணிக்கை வேறுபாடுகள்:***
இது, அடுத்தடுத்து காணப்படும் வரிசை எத்தனை தடவை வேறுபடுகிறது என்பதைக் காட்டுவது. அதாவது, எளிதாக அறியக்கூடிய பண்பான நீளத்தில் ஏற்படும் மாற்றத்தை இது குறிக்கிறது.

RFLPகளின் பிணைப்பு வரைபடங்கள்

1970களில், மறுஇணைவு தொழில்நுட்பத்தில் நடந்த புரட்சிகள் மரபியல் பிணைப்பு வரைபடங்கள் தயாரிக்க பெரிதும் உதவியது. இயற்கையாகவே காணப்படும் DNA வரிசைகளின் வேறுபாடுகள், (பல் உருத்தோற்றம்) வேதிய மாற்றம் புறத்தோற்ற அடையாளக் குறியீடு கட்குப் பதிலாக, குடும்பங்களில் குரோமோசோம் கடத்தப்படுவதைக் கண்டறிய உதவுகிறது. ஒரு ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதி வெட்டுமிடத்தில் DNA வரிசைகள் வேறுபடலாம் அல்லது வெவ்வேறு இடங்கட்கிடையே வேறுபடலாம். இவ்விரண்டிலுமே ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதியால் வெட்டப்படுவதின் விளைவாக உருவாகும் DNA துண்டுகள், குறிப்பிட்ட இடத்தில் வெவ்வேறு அல்லீல்களைக் கொண்ட உயிரிகட்கு இடையே வேறுபடும். இந்த பல்வேறு வரிசைகள் பொதுவாக **RFLP குறியீடுகள்** எனப்படுகின்றன.

ஒரு RFLP குறியீட்டுக்கும், ஹன்டிங்டன் நோய்க்கு மிடையேயான ஒரு மரபியல் பிணைப்பு 1983ல் கண்டுபிடிக்கப்பட்டது. இதன் பின்தான் பாரம்பரியமாக கடத்தப்படும் நோய்களைக் கண்டறிவதற்காக RFLPக்கள் குறியீடுகளாக பயன்படுத்தப்பட்டன. ஒரு RFLP குறியீடு, ஜீனுடன் எவ்வளவு அடிக்கடி இணைந்து கடத்தப்படுகிறதோ, அதைப் பொருத்து அது ஜீனுடன் எவ்வளவு நெருக்கமாக அமைந்துள்ளது என்பதை அறியலாம். இப்படியிருந்தால் மட்டுமே அது ஒரு சிறந்த மரபியற் அடையாளக் குறியீடாக இருக்க முடியும்.

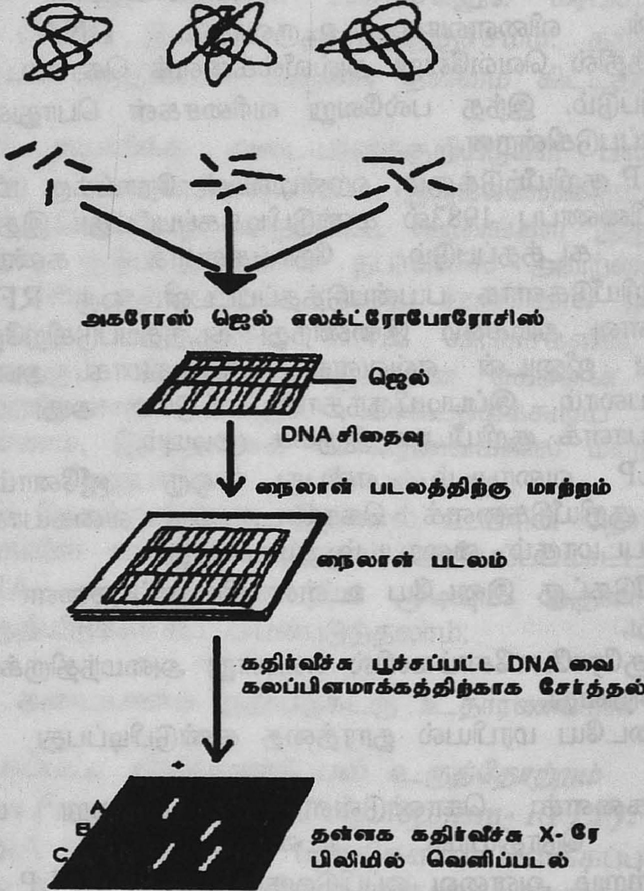
ஒரு RFLP வரைபடம் என்பது, ஒரு ஜீனோம் முழுக்க பரவியிருக்கும் குறியீடுகளைக் கொண்ட, ஒரு வகையான மரபியல் பிணைப்பு வரைபடமாகும். வரைபடம் தயாரிப்பது

(1) RFLP குறியீடுகட்கு இடையே உள்ள பிணைப்புகளை தீர்மானிப்பது,
(2) அவைகள் குரோமோசோம்களில் எவ்வாறு அமைந்திருக்கிறது என்பதை அறிவது,
(3) அவற்றிற்கிடையே மரபியல் தூரத்தை கண்டுபிடிப்பது

ஆகிய நிலைகளைக் கொண்டுள்ளது. வெவ்வேறு மனிதர்களில் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதியால் உண்டாக்கப்படும் துண்டுகளின் எண்ணிக்கை மற்றும் அளவை ஒப்பிடுவதன் மூலம் RFLP அடையாளக் குறியீடுகள் அடையாளம் காணப்பட்டு வரைபடமாக தயாரிக்கப்படுகிறது.

RFLP வரைபடத்தயாரிப்பில் பல்வேறு மனிதர்களின் லிம்போசைட்டுகள் அல்லது வேறு திசுக்களிலிருந்து பெறப்பட்ட DNA, ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதியின் உதவியால் பல துண்டுகளாக வெட்டப்படுகின்றன (படம் 16.2.). DNA துண்டுகள் அகரோஸ் எலக்ட்ரோபோரசிஸ் முறைமூலம் அவற்றின் அளவிற்கேற்ப, பிரிக்கப்படுகின்றன.

பெரிய துண்டுகள் மெதுவாக நகருமாதலால் மூலக்கூறு அளவு வேறுபாட்டிற்கு ஏற்ப துண்டுகள் எளிதாய் பிரிக்கப்படுகின்றன. இப்போது கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட DNA புரோபுகளைப் பயன்படுத்தி RFLPகள் அடையாளம் காணப்படுகின்றன. புரோபிலுள்ள நியூக்ளியோடைட்களின் வரிசையை பூர்த்திசெய்யும் வரிசைகளைக் கொண்ட DNA துண்டுகள் புரோபுடன் இணைக்கின்றன.



படம் 16.2. கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட புரோபுகளைக் கொண்டு RFLP க்களை கண்டறிதல்

புரோபுகளாக பயன்படுத்தப்படுபவை: ஜீன் துண்டுகள் பல்உருதோற்றத்தை அடையாளம் காணும் தனித்த DNA துண்டுகள். அடுத்தடுத்து திரும்பத் திரும்ப காணப்படும் சிறுவரிசைகள் ஆகியவை புரோபுகளாக பயன்படுத்தப்படுகின்றன. 'தன்னக கதிர்வீச்சு' உள்ளதால் DNA புரோபுடன் இணைந்த ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதியால் உருவான

துண்டு அடையாளம் காணப்படும். பல்உருதோற்றம் இருக்கும் நிலையில், வெவ்வேறு மனிதர்களிலிருந்து எடுக்கப்பட்ட மாதிரிகளில் வெவ்வேறு அமைப்புகள் (patterns) காணப்படும்.

ஒரு மரபியல் வரைபடத்தின் முக்கிய பயன்பாடு, ஒரு பரம்பரை நோயை, பாதிக்கப்பட்ட மனிதனில் DNA அடையாளக் குறியீடு எவ்வாறு கடத்தப்படுகிறது என்பதைக் கொண்டு வரைபடத்திலிருந்தே அறிய உதவுவதுதான். இதற்கு அந்த நோய்க்கு காரணமான ஜீனை அடையாளம் கண்டறிந்திருக்க வேண்டிய அவசியமும் இல்லை. அந்த நோய்க்கான மூலக்கூறு அடிப்படையும் தெரிய வேண்டும் என்பதுமில்லை. அரிவாள் செல் நோய், டேசாக்ஸ் நோய், சிஸ்டிக் பைப்ரோசிஸ், X-சிண்ட்ரோம், மயடோனிக் டிஸ்ட்ரோபி போன்ற நோய்களுக்கு காரணமான நோய் ஜீன்களை குரோமோசோமில் சரியான அமைவிடங்களில் கண்டறிய மரபியல் வரைபடங்கள் பயன்பட்டுள்ளன.

மரபியல் இணைப்பு வரைபட தயாரிப்பில் X குரோமோசோம்கள் பெரிதும் பயன்படுகின்றன. ஏனெனில் ஆண்களின் பண்புகள் யாவும் ஒரே ஒரு X குரோமோசோமில் உள்ள ஜீன்களில் பிரதிபலிக்கப் படுகின்றன. இதன் காரணமாகவே X குரோமோசோமின் மரபியல் வரைபடம் தயாரிக்கப்பட்டுவிட்டது. ஆட்டோசோம்களின் மரபியல் வரைபடத் தயாரிப்பு சிரமமானது.

இயற்பிய வரைபடங்கள்

இயற்பிய வரைபடம் என்பது, DNAவில் எளிதில் கண்டுபிடிக்கக்கூடிய எல்லைக்குறிகள் (landmarks) இருப்பதைக் குறிக்கும். பல்வேறு வகையான இயற்பியல் வரைபடங்கள் பல்வேறு பகுத்துணர் எல்லைகளைக் கொண்டுள்ளன. **குறைந்த-பகுத்துணர் இயற்பிய வரைபடம்** (low-resolution physical mapping), **குரோமோசோம் அல்லது செல் மரபியல்** (cytogenetic) **வரைபடம்** எனப்படும். இது ஒளிநுண்ணோக்கியின் மூலம் சாயமேற்றப்பட்ட குரோமோசோம்களை ஆராயும்போது அதில் தோன்றும் **பட்டைகளின்** (bands) அமைப்பு முறையைச் சார்ந்து இருக்கும். மனிதனில் 22வது ஆட்டோசோம்கள் மற்றும் X,Y குரோமோசோம்களில் காணப்படும் பட்டை அமைப்புகள் இதற்கு உதாரணமாகும். இவ்வரைபடத்தில் குறைந்தது 1,000 எல்லைக்குறியீடுகள், அதாவது கண்ணுக்குத் தெரியக்கூடிய பட்டைகள் காணப்படுகின்றன. ஒரு **cDNA வரைபடம்** என்பது குரோமோசோம் வரைபடத்தில் வெளிப்படும் DNA பகுதிகளின் (எக்ஸான்கள்) அமைவிடத்தைக் காட்டுவதாகும். விரிவான **காண்டிக் வரைபடம்** (Contig maps) ஜீனோமில் பரவிக் காணப்படும் ஒன்றின் மீது ஒன்று ஏறிய (overlapping) DNA துண்டுகளின் வரிசையைக் குறிக்கும். ஒரு பெரும் வரையறுக்கப்பட்ட வரைபடம் (macro restriction map)

நொதிகளால் வெட்டப்படும் இடங்களின் வரிசையையும் அவற்றிற்கிடையே உள்ள தூரங்களையும் விவரிக்கும். **மிக உயர்ந்த-பகுத்துணர் இயற்பிய வரைபடம்** (highest resolution physical map) மனித ஜீனோமிலுள்ள ஒவ்வொரு குரோமோசோமின் DNA பேஸ் இணைவுகளை முற்றிலும் அறிந்துகொள்ள உதவுவதாகும்.

குறைந்த பகுத்துணர் இயற்பிய வரைபடத் தயாரிப்பு

குரோமோசோம் வரைபடம் (Chromosome map)

இதில் ஜீன்கள் அல்லது மற்ற அடையாளம் காணக்கூடிய DNA துண்டுகள் அவற்றிற்குரிய குரோமோசோம்களுக்கு ஒதுக்கப்படுகிறது. ஜீன்களுக்கு இடையேயுள்ள தூரங்கள் பேஸ் இணைவிகளால் அளக்கப்படுகின்றன. கீழே விவரிக்கப்படும் சில தொழில்நுட்பங்கள் மூலம் (உ.ம் : முன்னிருந்த அதே இட கலப்பினமாக்கம்-*in situ* hybridizaton) ஜீன்கள் அல்லது குறியீடுகள் (markers) குறிப்பிட்ட பட்டைகளுக்கு ஒதுக்கப்படுகின்றன.

மரபியல் பிணைப்பு வரைபட தயாரிப்பைப் போலவே குரோமோசோம் வரைபட தயாரிப்பும், உயிரிகளில் வெளிப்படும் எளிதில் காணக்கூடிய பண்புகளைக் குறிக்கக்கூடிய மரபியல் குறியீடுகளை அடையாளம் காண உதவுகிறது. ஒவ்வொரு குறியீட்டுகட்கு இடையேயுள்ள தூரத்தை மதிப்பிட குரோமோசோம் வரைபடம் உதவுவதால் அவை இயற்பிய வரைபடங்கள் எனப்படுகின்றன. ஒரு பட்டைக்குள் காணப்படும் பேஸ் இணைவிகளில் எண்ணிக்கை மாத்திரமே மதிப்பிடப்படும். பலகாலம் வரை, ஒரு குரோமோசோமில் காணப்படும் ஒரு பட்டையின் அளவான 10Mb அளவு வரையே, ஒரு DNA துண்டை கண்டுபிடிக்க குரோமோசோம் வரைபடங்கள் பயன்பட்டன. முன்னிருந்த அதே இட கலப்பினமாக்க முறைகள் மூலம் தற்சமயம் 2 முதல் 5Mb வரை நெருக்கமாய் அமைந்திருக்கும் DNA வரிசைகளைக் கூட கண்டுபிடிக்க முடியும். மேலும் இச்செயல்முறைகளில் மாற்றம் ஏற்படுத்தி, வரைபடத்தின் பகுத்துணர் தன்மையை 100,000 bp வரை அதிகரிக்க முடியும். மேலும் குரோமோசோம் பட்டைகளை கண்டறியும் முறைகளில் முன்னேற்றம் ஏற்படுத்தி, குரோமோசோம் குறைபாடுகள் கொண்டவர்களின் வரைபடங்களை நுணுக்கமாய் தயாரிக்க முடிகிறது.

cDNA வரைபடம் (cDNA map)

குரோமோசோம் பகுதிகள் **அல்லது** பட்டைகளில் வெளிப்படுத்தக்கூடிய DNA பகுதிகளின் (எக்ஸான்கள்) இடங்களை குறிப்பதுதான் cDNA வரைபடம். வெளிப்படுத்தக்கூடிய DNA பகுதிகள் என்பது mRNAவாக படியெடுக்கப்படும் DNA பகுதிகளாகும். சோதனைச்சாலையில் mRNA

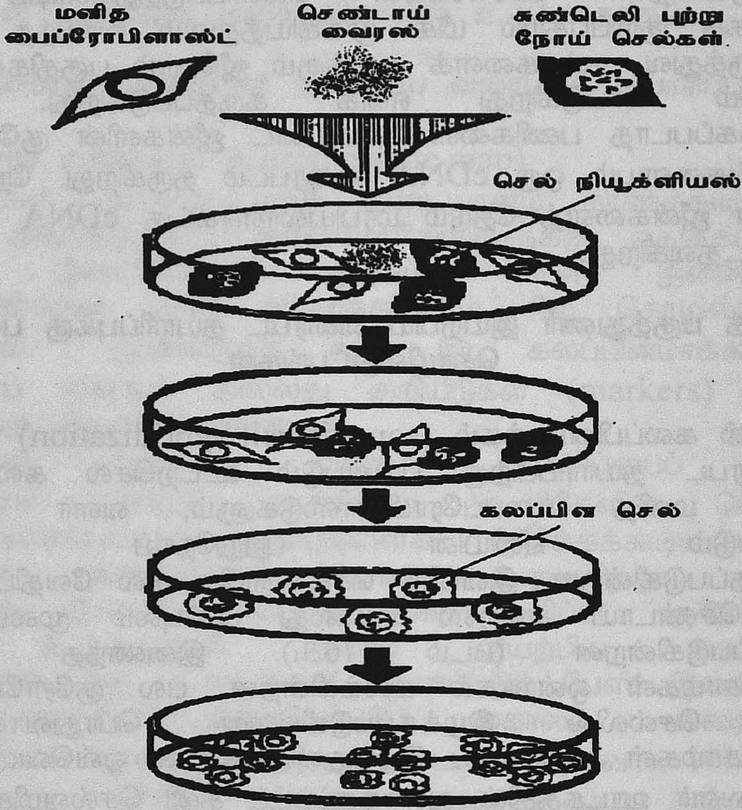
மூலக்கூறை வார்ப்பாக பயன்படுத்தி cDNA உற்பத்தி செய்யப்படுகிறது. இந்த cDNAவில் ஜீனோம் பகுதிகள் குறிக்கப்படுகின்றன. cDNAக்கள் வெளிப்படுத்தக்கூடிய ஜீனோம் பகுதிகளாகக் குறிப்பதால் மிக முக்கியத்துவம் வாய்ந்த உயிரியல் மற்றும் மருத்துவ பண்புகளைக் குறிக்கும் ஜீனோம் பகுதிகளை அவை அடையாளம் காட்டுகிறது எனக் கருதப்படுகிறது. தற்சமயம் கண்டுபிடிக்கப்படாத பணிகளைக் கொண்ட ஜீன்களின் குரோமோசோம் அமைவிடங்களையும் ஒரு cDNA வரைபடம் தருகிறது. நோய்களுக்கு காரணமான ஜீன்களைத் தேடும் மரபியலாளர்கட்கு cDNA வரைபடம் பெரிதும் உதவுகிறது.

குறைந்த பகுத்துணர் இயற்பிய வரைபட தயாரிப்புக்கு பயன்படும் தொழில்நுட்பங்கள்

1.உடற்செல் கலப்பினமாக்கம் (somatic cell hybridization)

ஜீன் வரைபட தயாரிப்பிற்கு பயன்படும் உடற்செல் கலப்பினமாக்க முறையில் மனித ஃபைப்ரோபிளாஸ்டுகளும், வளர் ஊடகத்தில் வளர்க்கப்படும் எலியின் புற்றுநோய் செல்களும் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. இவ்விரு செல்களுமே சில வேதிப்பொருட்கள் அல்லது செண்டாய் வைரஸ் அல்லது மின்புலம் மூலம் ஒன்றாக இணைக்கப்படுகின்றன (படம் 16.3.). இணைந்த செல்களின் குரோமோசோம்கள் ஒன்றாகக் கலக்கின்றன. பல குரோமோசோம்கள் கலப்பின செல்லில் இழக்கப்படுகின்றன. பொதுவாக மனித குரோமோசோம்கள் அதிகமாய் இழந்துவிடுகின்றன. ஒவ்வொரு கலப்பின செல்லும் வளர் ஊடகத்தில் வளர்க்கப்பட்ட தனி செல்வழிகளாக (cell lines) பராமரிக்கப்படுகிது. பெரும்பாலான செல்வழிகளில் உள்ள செல்களில் 8-12 மனித குரோமோசோம்களும், பல எலி குரோமோசோம்களும் காணப்படும். வெவ்வேறு வகை குரோமோசோம் சேர்மானங்களைக் (combinational) கொண்ட ஏராளமான உடற்செல் கலப்பினங்களை பயன்படுத்தி, ஒரு குறிப்பிட்ட ஜீன் ஒரு குறிப்பிட்ட குரோமோசோமில் இருக்கிறதா அல்லது இல்லையா என்பதைக் கண்டறியலாம். ஒரு குறிப்பிட்ட செல்வரிசை உற்பத்திசெய்யும் புரதத்தைக் கண்டுபிடித்து, அதை அந்த செல்வரிசையில் உள்ள குரோமோசோமில் தொடர்பு படுத்துவதன் மூலம், ஒரு குறிப்பிட்ட ஜீன் ஒரு குறிப்பிட்ட குரோமோசோமில் அமைந்திருப்பதைக் கண்டறிய முடியும். மாறாக, DNA குளோனிங் முறைமூலம் வரைபடம் தயாரிக்கப்பட வேண்டிய ஜீன் பிரிக்கப்பட்டிருந்தால், அந்த ஜீனை நேரிடையாக உடற்செல் கலப்பினத்திலிருந்து பிரித்தெடுக்கப்பட்ட DNA நியூக்ளியோடைட் வரிசைகளை பூர்த்தி செய்யும் தன்மையைக் கொண்டு வரைபட தயாரிப்பில் பயன்படுத்தலாம். மேலே விவரித்த முறையில் மாற்றம் செய்யப்பட்டு தற்சமயம் ஒவ்வொரு மனித

குரோமோசோம் (உதாரணம்: 7,16,17,19,X,Y) மட்டும் கொண்ட உடற்செல் கலப்பினம் உருவாக்கப்பட்டுள்ளன. இதை பயன்படுத்தி எளிதாய் வரைபடம் தயாரிக்கலாம்.

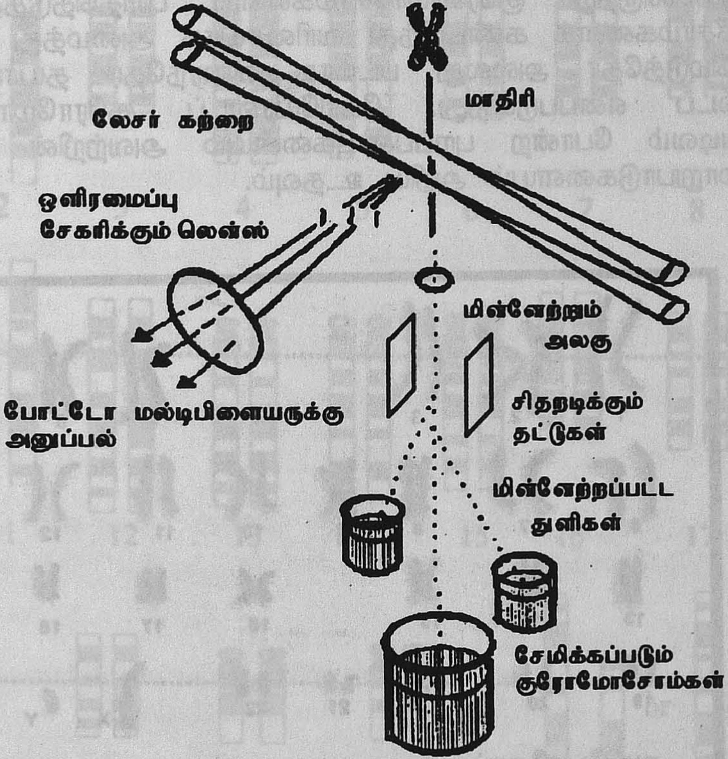


படம் 16.3. உடற்செல் கலப்பினமாக்கம்

2. குரோமோசோம் வகை வேறுபடுத்தல் (chromosome sorting)

செல் பிரிவின்போது குரோமோசோம் சுருங்கி நிலையாக இருக்கும் சமயத்தில் ஃப்ளோ-சைட்டோமெட்ரி (flow-cytometry) என்னும் முறைமூலம் குரோமோசோம்கள் அளவிற்கேற்ப பிரிக்கப்படுகின்றன. இதற்கு ஃப்ளோ-சைட்டோமீட்டர் எனும் உபகரணம் பயன்படுகிறது. இம்முறையில் குரோமோசோம்கள் சாயமேற்றப்பட்டு, ஒரு லேசர்கற்றை வழியாக அனுப்பப்படுகின்றன (படம் 16.4.). அப்போது அந்த குரோமோசோம் வெளிப்படுத்தும் ஒளிரும் தன்மை அளக்கப்படுகிறது. அதன் மூலம் குரோமோசோமில் காணப்படும் DNA அளவு ஆராயப்பட்டு, குரோமோசோம்கள் பிரிக்கப்படுகின்றன. இறுதியில் ஒவ்வொரு குரோமோசோமும் துளிகளாக தனித்தனி குழாய்களில் சேகரிக்கப்படுகின்றன. எந்த ஒரு குரோமோசோமில் ஒரு ஜீன் அமைந்துள்ளது என்பதைத் தீர்மானிக்க நைட்ரோசெல்லுலோஸ்

வடிதாள்களில் குரோமோசோம்கள் தனித்தனியே பிரித்து வைக்கப்படுகின்றன. அங்கு DNA சிதைக்கப்பட்டு, வரைபடம் தயாரிக்க வேண்டிய ஜீன் தன்னக கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட, பூர்த்தி செய்யக்கூடிய நியூக்ளியோடைட் வரிசை கொண்ட, DNA புரோபுடன் கலப்பினமாக்கப்படுகிறது. எந்த குரோமோசோமில் அந்த ஜீன் உள்ளதோ அங்கு அது புரோபுடன் கலப்பினத்தில் ஈடுபட்டிருப்பதை தன்னக கதிர்வீச்சு முறை காட்டிவிடும்.



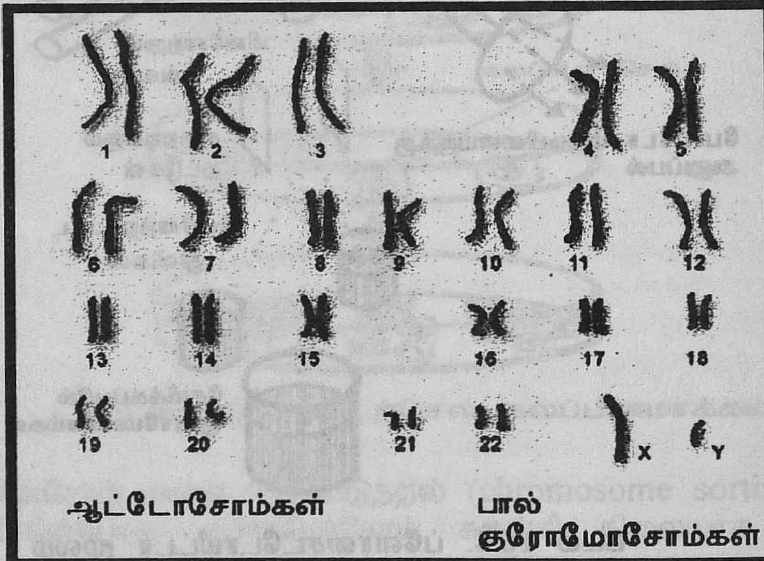
படம் 16.4. ப்ளோசைட்டோமீட்டர் மூலம் குரோமோசோம் சுத்தம் செய்தல்

3. முன்னிருந்த அதே இட கலப்பினமாக்கம் (*in situ* hybridization)
இம்முறையில் ஆராயப்படவேண்டிய குரோமோசோம்கள் ஒரு கண்ணாடி தட்டில் நிலை நிறுத்தப்படுகிறது. பின் DNA இழைகள் வேதியல் முறைமூலம் பிரிக்கப்படுகிறது. பின் கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட DNA புரோபுகள் கண்ணாடி தட்டிலுள்ள குரோமோசோம்களுடன் சேர்க்கப்படுகிறது. சரியான நிலைகளில் DNA புரோப் தயாரிக்கப்பட்ட குரோமோசோம்களில் உள்ள ஜீன் வரிசையுடன் கலப்பினத்தில் ஈடுபடுகிறது. எங்கெங்கு கதிர்வீசசு பூசப்பட்ட DNA இழைகள்

அதற்குரிய பூர்த்தி செய்யும் வரிசைகொண்ட குரோமோசோம் பகுதிகளுடன் இணைந்துள்ளதோ, அங்கெல்லாம் நுண்ணிய வெள்ளித் துகள்கள் காணப்படும். ஓவ்வொரு பகுதியிலுள்ள இந்த துகள்களின் எண்ணிக்கையை கண்டறிந்து கமப்யூட்டர் உதவியுடன் ஒரு குறிப்பிட்ட ஜீனின் அமைவிடத்தைக் கண்டறியலாம்.

4.கேரியோடைப்பிங் (karyotyping)

ஒரு செல்லிலிருந்து குரோமோசோம்களைப் பிரித்தெடுத்து இணை குரோமோசோம்களைக் கண்டறிந்து வரிசையாக அமைத்து அவற்றைப் புகைப்படமெடுத்தோ அல்லது படமாக வரைந்தோ தயாரித்த படம் **கேரியோடைப்** எனப்படுகிறது. கேரியோடைப் குரோமோசோம்களின் அளவு வடிவம் போன்ற புறப்பண்புகளையும் அவற்றின் அமைப்பில் ஏற்படும் மாறுபாடுகளையும் அறிய உதவும்.



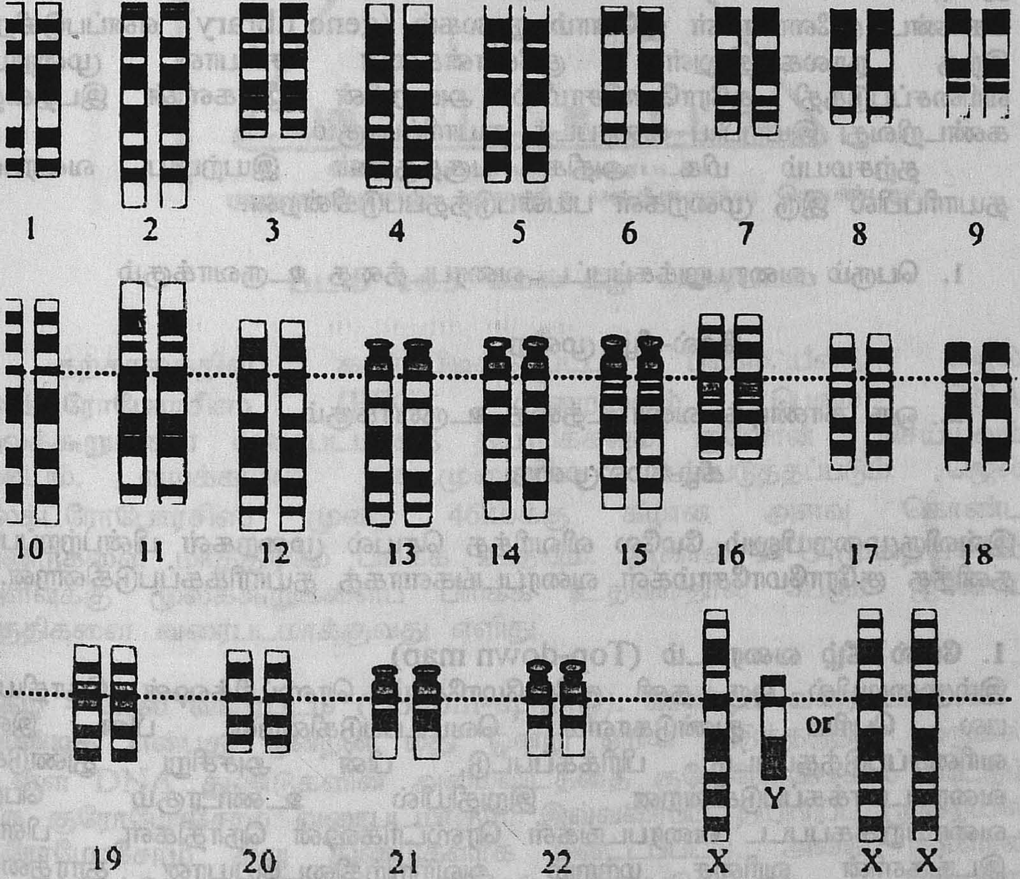
படம் 16.4 A. கேரியோடைப்பிங்

குரோமோசோம்கள் 1-3 தொகுதி A, குரோமோசோம்கள் 4-5 தொகுதி B, குரோமோசோம்கள் 6-12,X தொகுதி C,குரோமோசோம்கள் 13-15 தொகுதி D, குரோமோசோம்கள் 16-18 தொகுதி E, குரோமோசோம்கள் 19-20 தொகுதி F, குரோமோசோம்கள் 21-22 தொகுதி G,

5.குரோமோசோம் பட்டைகள் (chromosomal banding)

சில ஒளிரும் சாயங்களைப் பயன்படுத்தி குரோமோசோம்களிலுள்ள பட்டைகள் ஒளி நுண்ணோக்கியில் ஆராயப்படுகின்றன. மனிதனின் வெவ்வேறு வகை குரோமோசோமகளும், வெவ்வேறு வகை பட்டை

அமைப்புகளை கொண்டுள்ளன. சாதாரண மனிதனின் குரோமோசோமையும், சில மாற்றங்கள் கொண்ட மனிதனின் குரோமோசோமையும் ஒப்பிட்டு வேறுபாடுகளைக் கண்டறிந்து குறிப்பிட்ட ஜீன்கள் எந்த குறிப்பிட்ட பட்டையில் உள்ளன எனக் கண்டறியலாம். மனித குரோமோசோமில் 1000 பட்டைகள் கண்டறியப்பட்டுள்ளன. ஒவ்வொரு பட்டையிலும் சராசரியாக 100 ஜீன்கள் இருப்பதாய் அறியப்பட்டுள்ளது.



படம் 16.4. B குரோமோசோம் பட்டைகள்

மிக அதிக பருத்துணர் இயற்பிய வரைபட தயாரிப்பு

முழு ஜீனோமின் மிக அதிக பகுத்துணர் இயற்பிய வரைபடத் தயாரிப்பில் DNAக்களை ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதிகளால் வெட்டுதல், ஒவ்வொரு துண்டின் வேதிய பண்புகளை ஆராய்தல் பின்பு ஜீனோமிலுள்ள துண்டுகளின் அசல்வரிசையை மீண்டும் உருவாக்குதல்

ஆகிய நிலைகள் உள்ளன. பொதுவாக வரிசை அமையப்படவேண்டிய DNA துண்டுகள் குரோமோசோமிலிருந்து பிரிக்கப்பட்டு, ஒரு உயிர் கடத்தியுடன் இணைக்கப்பட்டு, தகுந்த விருந்தோம்பி செல்களுக்குள் நுழைக்கப்படும். இங்கு DNA துண்டுகள் எண்ணிக்கையில் பெருக்கமடைகின்றன. அதாவது அவைகள் குளோன் செய்யப்படுகின்றன. இது போன்று தயாரிக்கப்பட்ட ஒரு முழுமையான ஜீனோமைக் கொண்ட DNA பகுதியினை ஏராளமான எண்ணிக்கையில் கொண்ட குளோன்கள் **ஜீனோம் நூலகம்** (gene library) எனப்படுகிறது. இந்த நூலகத்திலுள்ள குளோன்களை சரியான முறையில் வரிசைப்படுத்தி குரோமோசோமில் அவற்றின் ஜீன்களின் இடத்தைக் கண்டறிவது இயற்பிய வரைபடத் தயாரிப்பாகும்.

தற்சமயம் மிக அதிக பகுத்துணர் இயற்பிய வரைபடத் தயாரிப்பில் இரு முறைகள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

1. பெரும் வரையறுக்கப்பட்ட வரைபடத்தை உருவாக்கும்

   மேல்-கீழ் முறை.

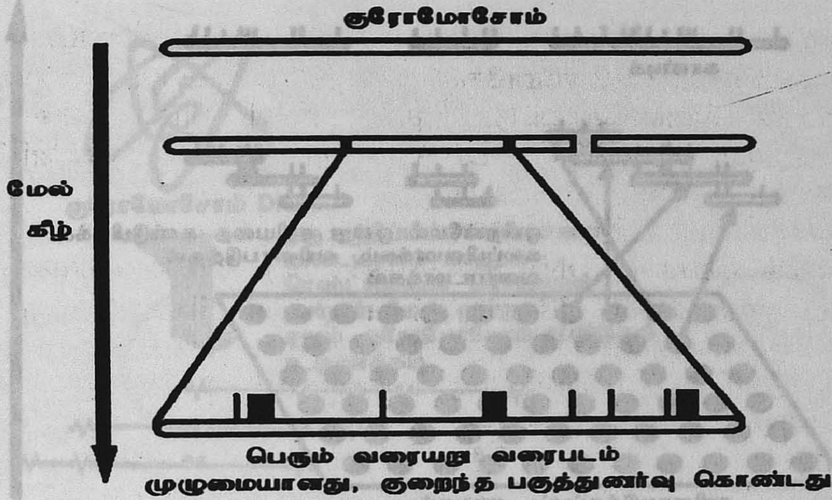
2. ஒரு காண்டிக் வரைபடத்தை உருவாக்கும்

   கீழ்-மேல்முறை.

இவ்விருமுறையிலும் மேலே விவரித்த செயல் முறைகள் பின்பற்றப்பட்டு தனித்த குரோமோசோம்கள் வரைபடங்களாகத் தயாரிக்கப்படுகின்றன.

1. மேல் கீழ் வரைபடம் (Top-down map)

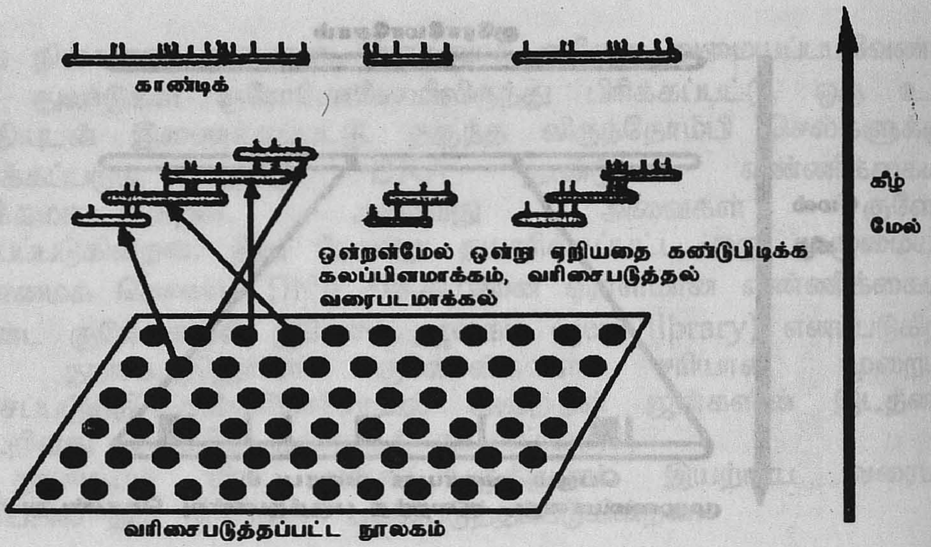
இம்முறையில் ஒரு தனி குரோமோசோம் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதியால் பல பெரிய துண்டுகாளக வெட்டப்படுகின்றன. பின் இவை வரிசைப்படுத்தப்பட்டு பிரிக்கப்பட்டு, பின் அச்சிறு துண்டுகள் வரைபடமாக்கப்படுகின்றன. இறுதியில் உண்டாகும் பெரும் வரையறுக்கப்பட்ட வரைபடங்கள் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதிகள் பிளந்த இடங்களின் வரிசை மற்றும் அவற்றிற்கிடையேயான தூரத்தைக் குறிக்கும் (படம் 16.5.). இம்முறையில் உருவாகும் வரைபடம் காண்டிக் வரைபடத்துடன் ஒப்பிடும்போது துண்டுகட்கு இடையே மிகக் குறைந்த இடைவெளிகளே கொண்டு தொடர்ந்து காணப்படும். ஆனால் வரைபடத்தின் பகுத்துணர் தன்மை குறைவு. குறிப்பிட்ட ஜீன்களைக் கண்டறிய இவ்வரைபடம் உதவும். மேலும் இம்முறைமூலம் மிக நீண்ட வரைபடப்பகுதிகளை உற்பத்தி செய்ய முடியாது. தற்போது இம்முறைமூலம் 100,000bp முதல் 1Mb வரையான இடங்களில் காணப்படும் DNA துண்டுகளை மாத்திரமே கண்டறியலாம்.



படம் 16.5. மேல்-கீழ் வரைபடம்

தற்காலத்தில் கண்டுபிடிக்கப்பட்ட பல்ஸ்.ஃ.பீல்டு ஜெல் எலக்ட்ரோபோரசிஸ் (PFG) முறைமூலம், பெரும் DNA மூலக்கூறுகளை வரைபடமாகத் தயாரிக்கவும், குளோன் செய்யவும் முடியும். வழக்கமாக நடைமுறையில் பயன்படுத்தப்படும் ஜெல் எலக்ட்ரோபோரசிஸ் முறை 46kbக்கு கீழான அளவு கொண்ட துண்டுகளை மாத்திரமே பிரிக்க உதவும். ஆனால் PFG முறை 10Mb அளவுக்கு மூலக்கூறுகளைப் பிரிக்க உதவுவதால் பெரும் ஜீனோம் பகுதிகளை வரைபடமாக்குவது எளிது.

2.கீழ் - மேல் வரைபடம் (Bottom-up map): காண்டிக் வரைபடங்கள் காண்டிக் என்பது ஒன்றன் மீது ஒன்று ஏறிய அடுத்தடுத்து அருகில் உள்ள DNA துண்டுகளின் அமைவிடத்தை குரோமோசோமில் காட்டும் ஒரு குரோமோசோம் வரைபடமாகும். இவ்வரைபட தயாரிப்பு முறையில் குரோமோசோம் சிறு துண்டுகளாக வெட்டப்பட்டு, அவை குளோன் செய்யப்பட்டு பின் வரிசைப்படுத்தப்படுகின்றன. இவ்வாறு வரிசைப்படுத்தப்படும் அடுத்தடுத்து DNA துண்டுகள் காண்டிக் எனப்படுகின்றன. இம்முறை படம் 16.6.ல் தரப்பட்டுள்ளன.

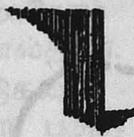


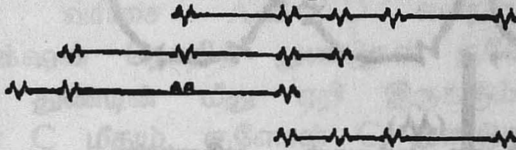
படம் 16.6. கீழ் - மேல் வரைபடம்

ஒரு ஜீனோமில், உள்ள குரோமோசோமில் அடுத்தடுத்து காணப்படும் பகுதிகளில் இரு குளோன்கள் காணப்படுகின்றனவா என்பதைக் கண்டறிய ஒன்றன்மேல் ஒன்று ஏறிய பகுதிகள் கொண்ட குரோமோசோம் DNAக்களை குறிக்கும் பல குளோன்களை சேகரிப்பது அவசியம் (குளோன் நூலகம்). இவ்வாறான நூலகத்தை தயாரிக்க குரோமோசோம் DNAவை ஒரு அடிக்கடி வெட்டும் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதியால் வெட்ட வேண்டும் (படம் 16.7.). இந்நொதி ஒவ்வொரு 500 பேஸ் இணைகளை (அல்லது அது போன்ற அளவுள்ள பகுதிகளை) வெட்டும். ஆனால் சோதனைமுறையில் கட்டுப்பாட்டை ஏற்படுத்தி இந்தநொதி அனைத்து ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதிவெட்டும் இடங்களில் எல்லாம் வெட்டாமல் பார்த்துக் கொள்ளப்படும். மாறாக பயன்படுத்தப்படும் நொதியின் அளவைக் குறைத்து, பகுதி வெட்டுதல் அனுமதிக்கப்படும்.

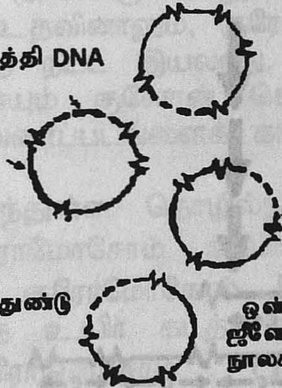
இக்கட்டுப்பாடுகள் மூலம் உயிர் கடத்தியின் எடுத்துச்செல்லும் திறனுக்கேற்ப DNA துண்டுகள் வெட்டப்படும் (பொதுவாக 20,000 முதல் 50,000 பேஸ் இணைவிகள் வரை). ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதி ஒரு குறிப்பிட்ட இடத்தை மாத்திரமே வெட்டாமல் பரவலாக வெட்டும். இதன் மூலம் DNAவின் அனைத்து வெட்டப்படும் பகுதிகளும் வெட்டப்பட்டு, பல ஒன்றன் மேல் ஒன்று ஏறிய துண்டுகள் கிடைக்கின்றன. இந்த துண்டுகள் பின் தகுந்த உயிர் கடத்தியுடன் இணைக்கப்படுகின்றன.







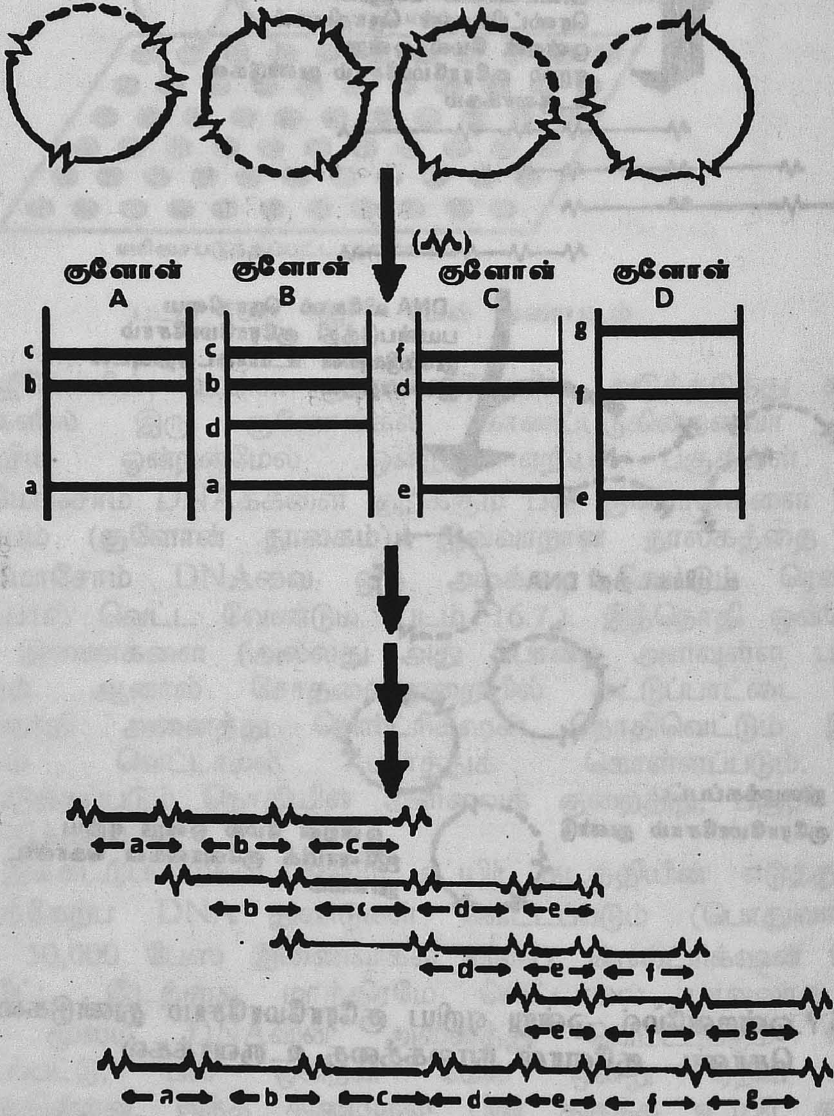




படம் 16.7.ஒன்றன்மேல் ஒன்று ஏறிய குரோமோசோம் துண்டுகளைக் கொண்ட குளோன் நூலகத்தை உருவாக்கல்

இவ்வாறு தயாரிக்கப்பட்ட குளோன் நூலகங்களில் உள்ள நுழைக்கப்பட்ட குரோமோசோம் DNA பகுதிகள் மேலும் சிறு பகுதிகளாகப் பிரிக்கப்பட்டு, எந்த குளோன்களில் பொதுவான துணை துண்டுகள் உள்ளன என அடையாளம் காணப்படுகிறது. இம்முறையை படம் 16.8. விளக்குகிறது. ஒரு குறிப்பிட்ட DNA குளோன்

(நுழைக்கப்பட்ட DNA துண்டு கொண்ட உயிர்கடத்தி), ஒன்று அல்லது அதற்கு மேற்பட்ட நொதிகளால் பிளக்கப்படுகிறது (குளோன்களை உருவாக்க பயன்படுத்தப்பட்ட நொதிகள் இப்பொழுது பயன்படுதப்படுவதில்லை). இதில் அனைத்து இடங்களும் அடையாளம் காணப்பட்டு வெட்டப்படுவதற்கு சோதனை அமைப்பு உறுதிசெய்கிறது.

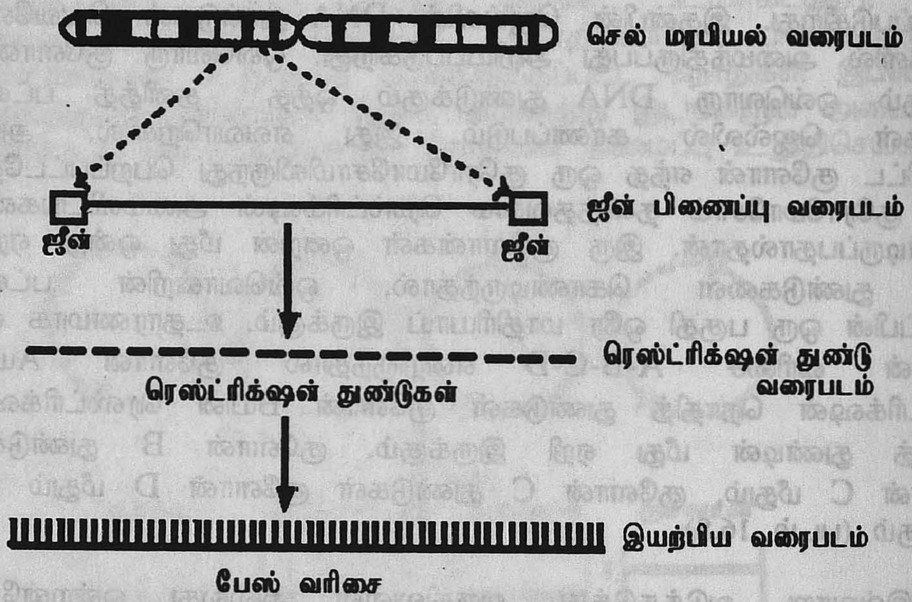


படம் 16.8. ஒரு காண்டிக் வரைபடம் உருவாக்கம்

DNA துண்டுகள் அகரோஸ் ஜெல்லில் எலக்ட்ரோபோரோசிஸ் செய்யப்படுகிறது. இதன்பின் ஜெல்லில் DNA துண்டுகள் வெவ்வேறு இடங்களில் அமைந்திருப்பது அறியப்படுகிறது. ஒவ்வொரு குளோனில் இருக்கும் ஒவ்வொரு DNA துண்டுக்கும் ஒத்த தனித்த பட்டை வகைகள் ஜெல்லில் காணப்படும். இது எவ்வாறெனில், அந்த குறிப்பிட்ட குளோன் எந்த ஒரு குரோமோசோமிலிருந்து பெறப்பட்டதோ, அந்த குரோமோசோம் தனித்தவகை ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் அமைவிடங்களை கொண்டிருப்பதால்தான். இரு குளோன்கள் ஒன்றன் மீது ஒன்று ஏறிய DNA துண்டுகளை கொண்டிருந்தால், ஒவ்வொன்றின் பட்டை அமைப்பின் ஒரு பகுதி ஒரே மாதிரியாய் இருக்கும். உதாரணமாக ஒரு குளோன் வரிசை A-B-C-D என்றிருந்தால் குளோன் Aயின் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதித் துண்டுகள் குளோன் Bயின் ரெஸ்ட்ரிக்ஷன் நொதித் துண்டின் மீது ஏறி இருக்கும். குளோன் B துண்டுகள் குளோன் C மீதும், குளோன் C துண்டுகள் குளோன் D மீதும் ஏறி இருக்கும் (படம் 16.8).

இவ்வாறு அடுத்தடுத்து அருகிலுள்ள அல்லது ஒன்றன்மேல் ஒன்று ஏறிய ஜீனோம் பகுதிகளைக் குறிக்கும் குளோன் தொகுப்புகள் காண்டிக்குகள் ஆகும். அடுத்தடுத்துள்ள காண்டிக்குகளை இணைப்பதுதான் பெரும் நேரத்தை எடுத்துக் கொள்ளும் செயலாகும். மிகச்சிறிய இடத்தில் (2Mbக்கு கீழே) உள்ள ஜீன்களை காண்டிக் வரைபடம் கண்டறிய உதவினாலும், குரோமோசோமின் முழுபகுதிக்கும் காண்டிக் வரைபடத்தை நீட்ட இயலாது. ஏனெனில் குரோமோசோமின் அனைத்து பகுதிகளையும் குளோன் செய்ய முடியாது. படம் 16.9. பல்வேறு வகையான வரைப்படங்ளைக் காட்டுகிறது.

தற்சமயம் வளர்ந்துள்ள தொழில்நுட்பம் மூலம் செயற்கையாக உருவாக்கப்பட்ட குரோமோசோம் உயிர் கடத்திகள் மூலம் 1Mb வரையிலுள்ள மனித குரோமோசோம் DNA துண்டுகளை குளோன் செய்ய முடியும். இந்த உயிர் கடத்திகள் ஈஸ்ட் செல்களில், ஈஸ்ட் செயற்கையான குரோமோசோம் (YACS -Yeast Artificial Chromosomes) பராமரிக்கப்படுகின்றன. YAC முறையினால் பயன்படுத்தவேண்டிய குளோன்களின் எண்ணிக்கை மிகவும் குறைந்துள்ளது.



படம் 16.9. பல்வேறு வகை ஜீனோம் வரைபடங்கள்

மனித ஜீனோமை வரிசைப்படுத்தும் தொழில்நுட்பங்கள் (Sequencing Technologies of Human Genome)

DNA வரிசைப்படுத்தல் என்பது, ஒரு DNA மூலக்கூறில் அடினைன், குவானைன், சைடோசின், தைமின் ஆகிய நியூக்ளியோடைட் பேஸ்களின் வரிசையைத் தீர்மானித்து வரிசைப்படுத்தும் முறைகளைக் குறிக்கும்.

அடிப்படை உயிரியல் ஆய்வுகள், DNA வரிசைகளை பயன்படுத்திச் செய்யப்படும் ஆய்வுகள், மருத்துவம், உயிரிய தொழில்நுட்பம், மற்றும் தடய அறிவியல் உயிரியல் ஆகிய துறைகட்கு மனித ஜீனோமை வரிசைப்படுத்துவது அவசியம். தற்கால DNA வரிசை தொழில்நுட்பங்கள் மனித ஜீனோம் திட்டத்தில் (HGP) மனித ஜீனோம்களை வரிசைப்படுத்த உதவியுள்ளது.

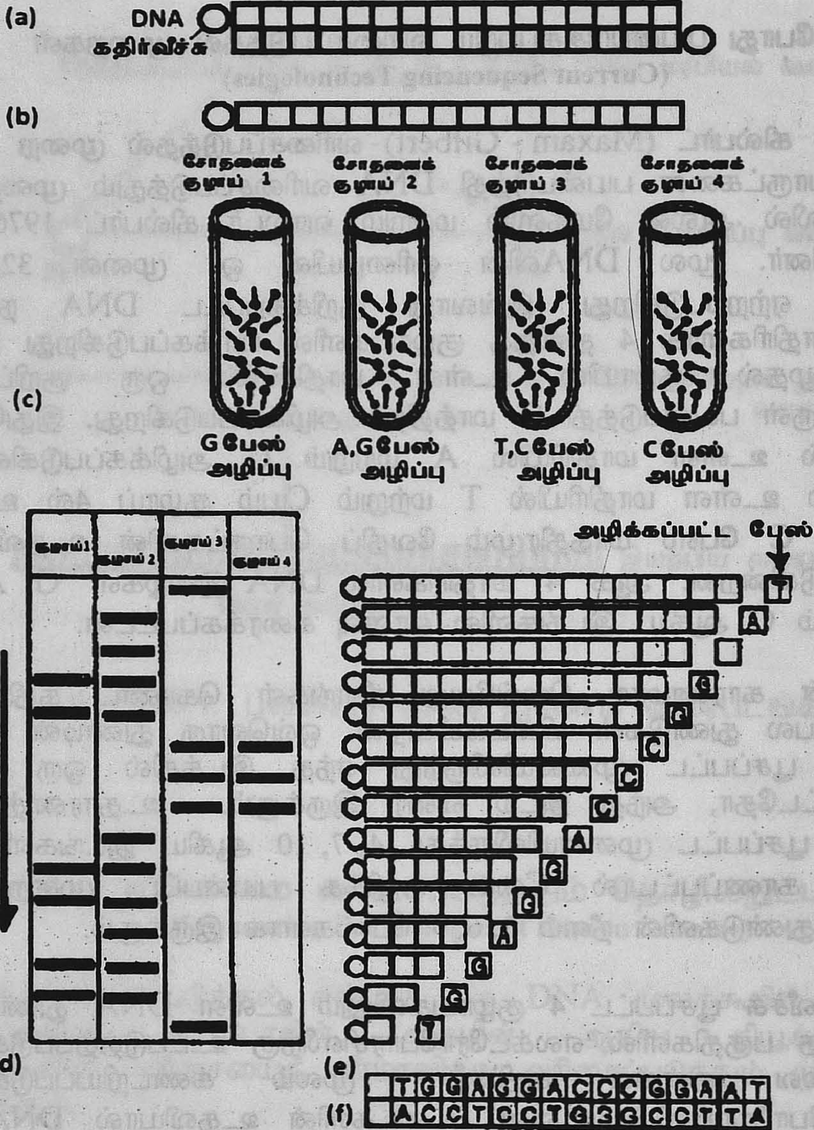
தற்போது பயன்படுத்தப்படும் வரிசைப்படுத்தல் முறைகள் (Current Sequencing Technologies)

மேக்ஸம் - கில்பர்ட் (Maxam - Gilbert) வரிசைப்படுத்தல் முறை

வேதிப் பொருட்களை பயன்படுத்தி DNA வரிசைப்படுத்தும் முறையை முதன்முதலில் ஆலன் மேக்ஸம் மற்றும் வால்டர் கில்பர்ட் 1976-77ல் உருவாக்கினர். மூல DNAவின் ஓரிழையின் ஓர் முனை 32_Pஆல் கதிர்வீச்சு ஏற்றப்படுகிறது. இவ்வாறு குறிக்கப்பட்ட DNA நான்கு தனித்த மாதிரிகளாக 4 தனித்த குழாய்களில் பிரிக்கப்படுகிறது (படம் 16.10.). முதல் குழாயில் உள்ள மாதிரியில் ஒரு குறிப்பிட்ட வேதிப்பொருள் பயன்படுத்தி G மாத்திரம் அழிக்கப்படுகிறது. இதுபோல் குழாய் 2ல் உள்ள மாதிரியில் A மற்றும் G அழிக்கப்படுகின்றன. குழாய் 3ல் உள்ள மாதிரியில் T மற்றும் Cயும் குழாய் 4ல் உள்ள மாதிரியில் C பேஸ் மாத்திரமும் வேதிப் பொருட்களின் உதவியால் அழிக்கப்படுகின்றன. ஆக 4 மாதிரிகளில DNA இழைகள் G, A+G, T+C மற்றும் C ஆகிய இடங்களில் ஓரளவு கரைக்கப்பட்டன.

இதன் காரணமாக வெவ்வேறு நீளங்கள் கொண்ட கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட பல துண்டுகள் கிடைக்கின்றன. ஒவ்வொரு துண்டின் நீளம், கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட முனையிலிருந்து எந்த இடத்தில் ஒரு பேஸ் அழிக்கப்பட்டதோ, அந்த இடம் வரை இருக்கும். உதாரணத்திற்கு கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட முனையிலிருந்து, 4, 7, 10 ஆகிய இடங்களில் C பேஸ்கள் காணப்பட்டால் Cயை அழிக்க பயன்பட்ட முறைமூலம் உருவான துண்டுகளின் நீளம் 3, 6, 9 பேஸ்களாக இருக்கும்.

கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட 4 குழாய்களிலும் உள்ள DNA துண்டுகள் அடுத்தடுத்த பகுதிகளில் எலக்டரோபோரசிஸிற்கு உட்படுத்தப்படுகிறது. பின் இவை தன்னக கதிர்வீச்சு மூலம் கண்டறியப்படுகிறது. எலக்ட்ரோபோரோசிஸில் உள்ள பட்டைகளின் உதவியால் DNAவின் பேஸ்களின் வரிசைகள் தீர்மானிக்கப்படுகின்றன.

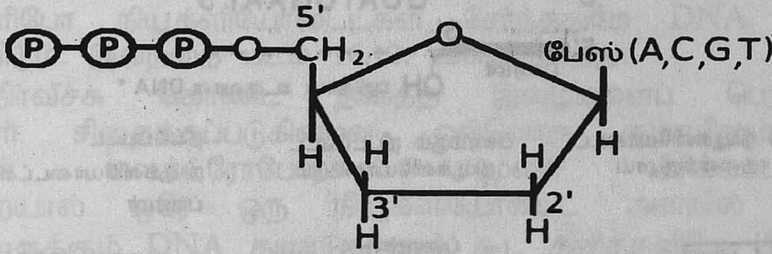


படம் 16.10. மாக்ஸம்-கில்பர்ட் DNA வரிசைப்படுத்தும் முறை

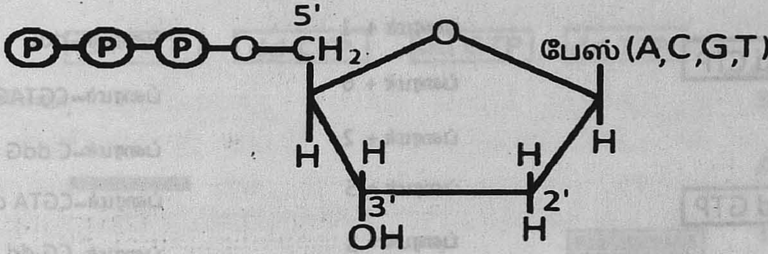
ஸேங்கரின் டை-டிஆக்ஸி நியூக்ளியோடைட் முறை (Sanger's Di-deoxy nucleotide Method)

நொதியைப் பயன்படுத்தும் இம்முறை தற்சமயம் அதிகமாக பயன்படுத்தப்படுகிறது. இதற்கு 'சங்கிலி முடிவு' முறை என்றும் பெயர்.

டை-டிஆக்ஸி நியூக்ளியோடைட் ட்ரைபாஸ்பேட்



டிஆக்ஸி நியூக்ளியோடைட் ட்ரைபாஸ்பேட்



படம் 16.11. 3' கார்பன் இடத்தில் வேறுபாடு

இம்முறையில் பயன்படுத்தப்படும் டை-டிஆக்ஸிநியூக்ளியோடைட் சர்க்கரையின் 2' மற்றும் 3' கார்பன்களில் 1 ஹைட்ராக்சைல் தொகுதியைக் கொண்டிராது (படம்.16.11.). இயற்கையான டிஆக்ஸிரிபோ நியூக்ளியோடைட் சர்க்கரையில் 3'ஹைட்ராக்சைல் தொகுதி இருக்கும்.

சாதாரணமாய் நடைபெறும் DNA இரட்டித்தலில் வளரும் சங்கிலியின் கடைசி நியூக்ளியோடைடின் 3' ஹைட்ராக்சைல் தொகுதியுடன் உள்ளே நுழையும். நியூக்ளியோஸைட்-ட்ரைபாஸ்பேட்டின் 5' பாஸ்பேட் தொகுதி இணையும். வளரும் சங்கிலியில் ஒரு டை-டிஆக்ஸி நியூக்ளியோடைட் இணைந்தால் இரட்டித்தல் தொடர்ந்து நடைபெறாது. இதற்குக் காரணம் 3' ஹைட்ராக்சைஸ் தொகுதி அற்ற டை-டிஆக்ஸிநியூக்ளியோடைட் ஒரு பாஸ்போ டை எஸ்டர் இணைவை ஏற்படுத்த முடியாது. இதனால் DNA உற்பத்தி முடிந்துவிடும்.



டை-டி ஆக்ஸி நியூக்ளியோடைட் கொண்ட சோதனைக்குழாய்	ப்ரைமரும் நீட்டப்பட்ட நியூக்ளியோடைடும்	நீட்டப்பட்ட நியூக்ளியோடைட்களுடன் ப்ரைமர்
dd ATP	ப்ரைமர் + 4	ப்ரைமர் –CGTddA
	ப்ரைமர் + 9	ப்ரைமர் –CGTAGCTT ddA
dd CTP	ப்ரைமர் + 1	ப்ரைமர் – ddC
	ப்ரைமர் + 6	ப்ரைமர் –CGTAG ddC
dd GTP	ப்ரைமர் + 2	ப்ரைமர் –C ddG
	ப்ரைமர் + 5	ப்ரைமர் –CGTA dd G
dd TTP	ப்ரைமர் + 3	ப்ரைமர் –CG dd T
	ப்ரைமர் + 7	ப்ரைமர் –CGTAGC ddT
	ப்ரைமர் +8	ப்ரைமர் –CGTAGCT ddT

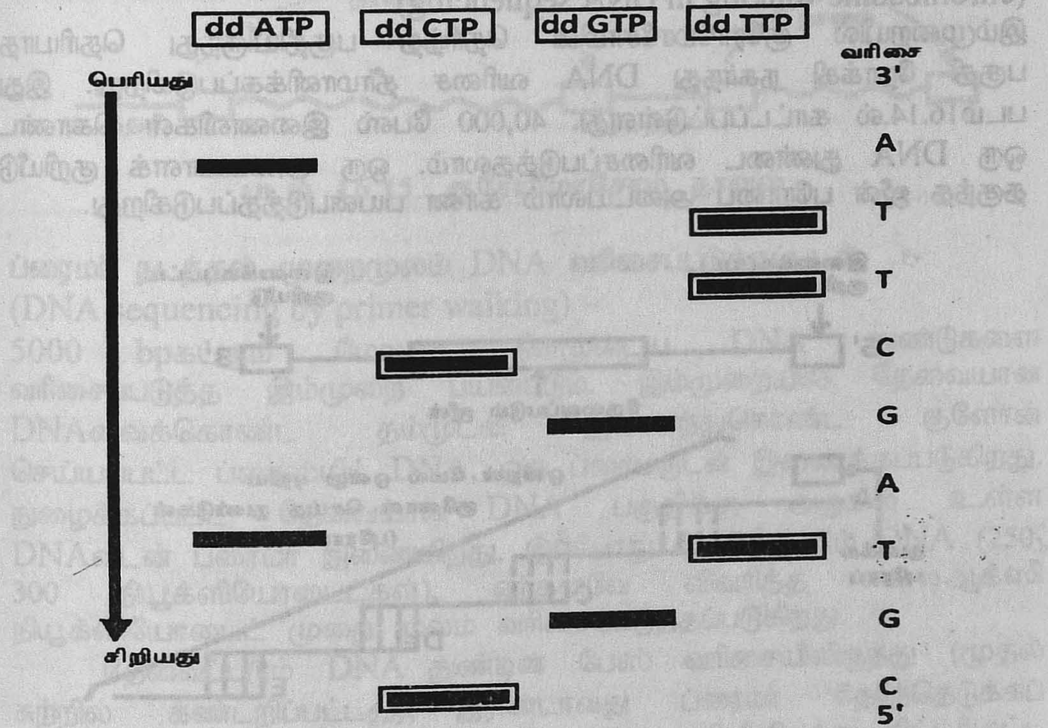
படம் 16.12. டை-டிஆக்ஸி நியூக்ளியோடைட்கள் முன்னிலையில் புதிய DNA துண்டுகள் உருவாக்கம்

வரிசைப்படுத்தும் முறை

வரிசைப்படுத்தப்பட வேண்டிய ஒற்றை இழை DNA வார்ப்பாக பயன்படுகிறது. பின், வார்ப்பின் சிறிய பகுதியை பூர்த்தி செய்யும் ஒரு சிறு ப்ரைமருடன் இது இணைக்கப்படுகிறது. ப்ரைமரின் 3' ஹைட்ராக்சைல் தொகுதி DNA உற்பத்தியைத் துவக்குகிறது (படம் 16.12.). DNA உற்பத்தி 4 சோதனைக் குழாய்களில் நடத்தப்படுகிறது. ஒவ்வொரு குழாயிலும், ப்ரைமர் இணைந்த DNA, கிளிநௌ (Klenow) சிற்றலகு (எ.கோலியின் DNA பாலிமரேஸ்), நான்கு டை-டிஆக்ஸி ரிபோநியூக்ளியோடைட்கள் (ddATP, ddCTP, ddGTP அல்லது ddTTP) காணப்படும். ஒரு ப்ரைமர் அல்லது ஏதாவது ஒரு டிஆக்ஸிரிபோ நியூக்ளியோடைட்களில் கதிர்வீச்சு 32p, ஏற்றுவது அவசியம். DNA உற்பத்தி முடியும் போது ஒவ்வொரு குழாயிலும் வெவ்வேறு நீளம் கொண்ட DNA துண்டுகள் ப்ரைமருடன் இணைந்து காணப்படும். ddATP கொண்ட முதல் குழாயில் வளரும் சங்கிலியில் ddA சேர்ந்தவுடன் (வார்ப்பு இழையின் dT யை பூர்த்தி செய்வது) DNA உற்பத்தி நின்று போயிருக்கும். ஆகவே இக்குழாயில் வெவ்வேறு

நீளம் கொண்ட பல DNA துண்டுகள் ddA என்ற இறுதி பேஸுடன் காணப்படும். இதுபோலவே மற்ற மூன்று குழாய்களிலும் அந்தந்த டைடிஆக்ஸிரிபோ நியூக்ளியோடைட்கள் சேர்ந்ததுமே DNA உற்பத்தி நின்று விடும். இவற்றை படம் 16.12. விளக்குகிறது.

கதிர்வீச்சு கொண்ட தனித்த இழைகளைப் பெற DNA துண்டுகள் சிதைக்கப்படுகின்றன. ஒவ்வொரு குழாயிலும் உள்ள மாதிரிகள் எலக்ட்ரோபோரசிஸ் மூலம் பிரிக்கப்படுகின்றன. இம்முறையால் ஒரே ஒரு நியூக்ளியோடைட் அளவில் நீளத்தில் வேறுபட்டிருக்கும் DNA துண்டுகளைக் கூட தனித்தனியே பிரிக்கலாம். மிகச்சிறிய DNA மிக வேகமாக நகர்ந்திருக்கும்.



படம் 16.13. புதிதாய் உருவான DNA துண்டின் வரிசை

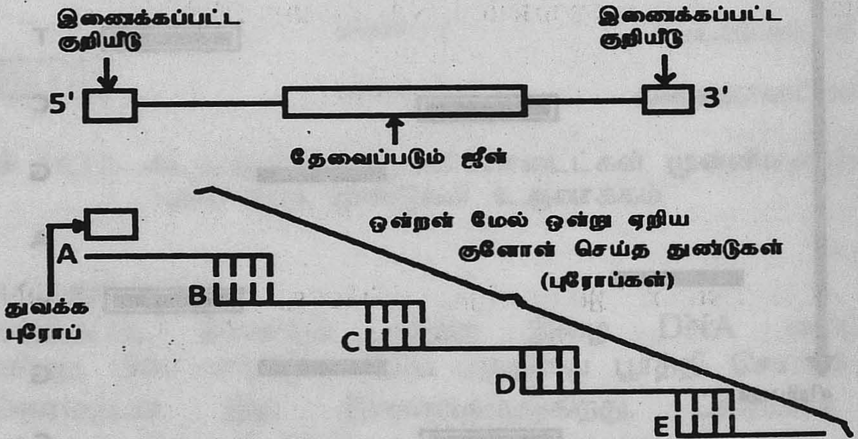
DNA துண்டுகளில் உள்ள பேஸ்களின் வரிசையைத் தன்னக கதிர்வீச்சால், கதிர்வீச்சு பூசப்பட்ட பட்டைகள் மூலம் அறியலாம். படம் 16.13ல் அசல் DNAவை பூர்த்தி செய்யக்கூடிய புதிதாய் உருவான DNA துண்டுகளின் வரிசை காட்டப்பட்டுள்ளது. கீழேயிருந்து மேலாக 5' முதல் 3' திசை வரை பட்டைகளைக் கண்டறிவது வசதியானது. பட்டைகளின் வரிசையை குறிப்பதன் மூலம், அதாவது முதலில் C இரண்டாவது G மூன்றாவது T இதுபோல செய்வதன் மூலம்

DNAவின் வரிசையை தெளிவாய் தீர்மானிக்கலாம். தன்னக கதிர்வீச்சு மூலம் ஒரு DNA துண்டின் 350 பேஸ் வரிசைகளைக் கண்டறியலாம்.

32_P க்கு பதில் 33_P அல்லது 35_S ஐப் பயன்படுத்தல், கிளிநெள சிற்றலகுக்குப்பதில் *தெர்மஸ் அகுவாடிகஸ்* பாக்டீரியத்தின் DNA பாலிமரேஸை பயன்படுத்தல், பாக்டீரியோபேஜ் M13ஐ குளோனிங் மற்றும் DNA வரிசைப்படுத்த உதவும் உயிர்கடத்தியாக பயன்படுத்தல் ஆகிய முறைகள் மூலம் டை-டிஆக்ஸி நியூக்ளியோடைட் முறை தற்போது மேம்படுத்தப்பட்டுள்ளது.

DNA வரிசைப்படுத்தலில் குரோமோசோம் நடத்தல் (chromosome walking in DNA sequencing)

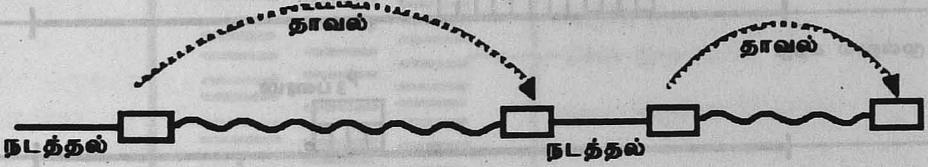
இம்முறையில் குரோமோசோமின் தெரிந்த பகுதியிருந்து தெரியாத பகுதி நோக்கி நகர்நது DNA வரிசை தீர்மானிக்கப்படுகிறது. இது படம்16.14.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது. 40,000 பேஸ் இணைவிகள் கொண்ட ஒரு DNA துண்டை வரிசைப்படுத்தலாம். ஒரு அடையாளக் குறியீடு தகுந்த ஜீன் புரோபை அடையலாம் காண பயன்படுத்தப்படுகிறது.



படம் 16.14. குரோமோசோம் நடத்தல்

இந்த ஜீன் புரோபின் சில பேஸ் வரிசைகள் அடையாளக் குறியீட்டின் பேஸ் வரிசைகளைப் பூர்த்தி செய்வதாய் இருக்க வேண்டும். முதல் புரோப் A துண்டை கொண்ட குளோன்களுடன் மட்டுமே கலப்பினத்தில் ஈடுபடும். இந்த A துண்டை பிரித்தெடுத்து குளோன் செய்து, B துண்டை கண்டறியும் புரோபாக பயன்படுத்தலாம். இமமுறையை மீண்டும் மீண்டும் பயன்படுத்தி துண்டு D, துண்டு Eயுடன் கலப்பினத்தில் ஈடுபடும் வரை பயன்படுத்தலாம். இம்முறையின் மூலம் தேவைப்படும் ஜீனின் வரிசையைக் கண்டறியலாம்.

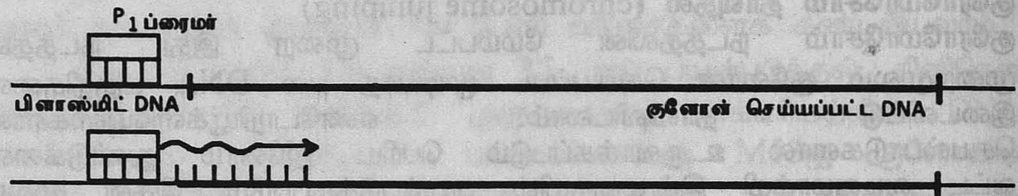
குரோமோசோம் தாவுதல் (chromosome jumping)
குரோமோசோம் நடத்தலின் மேம்பட்ட முறை இது. நடத்தல் முறைமூலம் குளோன் செய்யப்பட முடியாத பல DNA பகுதிகளை இடைவிட்டு தாவிவிடலாம். எண்டோநியூக்ளியேஸ்களின் செயல்பாடுகளால் உருவாக்கப்படும் பெரிய ஜீனோம் துண்டுகளை வட்ட வடிவமாக்கி இம்முறையில் பயன்படுத்தப்படும். இதன் மூலம் தூரத்திலிருக்கும் DNA வரிசைகளை ஒன்றாக அருகில் கொணர்ந்து குளோன் செய்யலாம் (படம் 16.5.). குரோமோசோம் நடத்தல், தாவுதல் முறைகளைப் பயன்படுத்தி சிஸ்டிக் பைப்ரோசிஸ் நோய்க்கான ஜீன் கண்டுபிடிக்கப்பட்டுள்ளது.

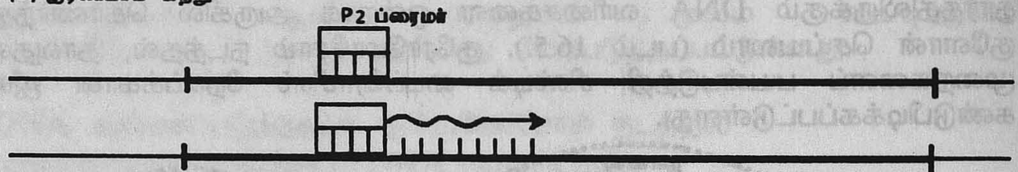


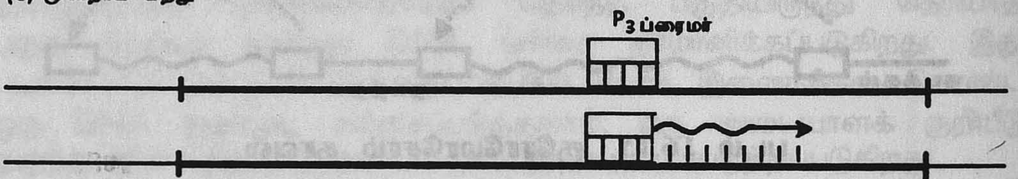
படம் 16.15. குரோமோசோம் தாவல்

ப்ரைமர் நடத்தல் முறைமுலம் DNA வரிசைப்படுத்தப்படல் (DNA sequencing by primer walking)
5000 bpகட்கும் மேலான நீளமுடைய DNA துண்டுகளை வரிசைப்படுத்த இம்முறை பயன்படும். இம்முறையில் தேவையான DNAவைக்கொண்ட தம்முடன் இணைந்துகொண்ட குளோன் செய்யப்பட்ட ப்ளாஸ்மிட் DNA, ஒரு ப்ரைமருடன் இணைக்கப்படுகிறது. நுழைக்கப்பட்ட தேவையான DNA பகுதிக்கு அருகில் உள்ள DNAவுடன் ப்ரைமர் இணைகிறது. இப்போது தேவைப்படும் DNA (250-300 நியூக்ளியோடைட்கள்), ஏற்கனவே விவரித்த டை-டிஆக்ஸி நியூக்ளியோடைட் முறை மூலம் வரிசைப்படுத்தப்படுகிறது.

தேவைப்படும் DNA துண்டின் பேஸ் வரிசையிலிருந்து (முதல் சுற்றில் கண்டறிப்பட்டது), இரண்டாவது ப்ரைமர் தேர்ந்தெடுக்கப் படுகிறது. இது முதல் ப்ரைமர் இணைந்த பகுதியிலிருந்து கிட்டத்தட்ட 300 நியூக்ளியோடைட்கள் தள்ளி இணையும். தேவைப்படும் DNAவின் அடுத்த துண்டு மேலும் 250-300 பேஸ்கள் நீளத்திற்கு வரிசைப் படுத்தப்படுகிறது (2வது சுற்று). இவ்வரிசை மூன்றாவது ப்ரைமரை தேர்ந்தெடுக்க உதவி, அடுத்த 250-300 பேஸ்களைத் தீர்மானிக்கும் (மூன்றாவது சுற்று). இம்முறை தேவையான முழு DNA பகுதி வரிசைப்படுத்தப்படும் வரை தொடரும் (படம் 16.16).







படம் 16.16. ப்ரைமர் நடத்தல் முறை

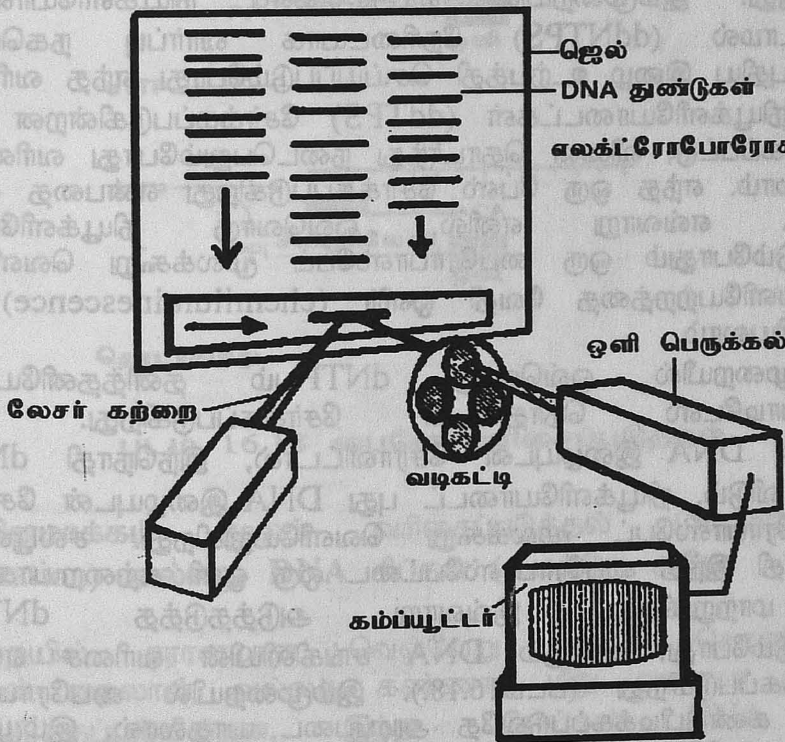
மேலே விவரித்த ஜெல் சார்ந்த வரிசைப்படுத்தும் தொழில்நுட்பங்கள் மனித ஜீனோமின் சிறு பகுதிகளை மாத்திரமே வரிசைப்படுத்த உதவும். இம்முறைகளைப் பயன்படுத்தியே முழு குரோமோசோம்களையும் வரிசைப்படுத்தி விடலாம் என்றாலும் அதற்காகும் செலவும் காலமும் கற்பனை செய்ய முடியாதது. மனிதனின் சிறிய குரோமோசோமான 7-ல் 50Mbயும், பெரிய குரோமோசோமான 1ல் 250Mbயும் உள்ளன. இதுவரை வரிசைப்படுத்தப்பட்ட பெரிய அமைப்பு 350,000bp மட்டுமே. மிகச்சிறந்த தொழில்நுட்பம் மூலம் ஒரு வருடத்திற்கு 50,000 முதல் 100,000 பேஸ்களை மட்டுமே வரிசைப்படுத்த முடியும் இதற்கு ஒரு பேஸிற்கு 1 டாலர் முதல் 2 டாலர் வரை செலவாகும். இந்த வீதத்தில் 30,000 வருடங்களும், குறைந்தது 3 பில்லியன் டாலர்களும் வரிசைப்படுத்தவே தேவைப்படும்.

தானியங்கி DNA வரிசைப்படுத்தல் (automated DNA sequencing)

இம்முறை மனித ஜீனோம் திட்டத்தில் பயன்படுத்தப்பட்டது. இதில் ஒரு பேஸிற்கு 0.2 டாலர் மாத்திரமே செலவு ஆகிறது. ஒரு நாளைக்கு 10,000 நியூக்ளியோடைட்களை வரிசைப்படுத்துகிறது.

இம்முறையில் சங்கிலியை முடிக்கும் நியூக்ளியோடைட்களான டை-டிஆக்ஸி-நியூக்ளியோடைட்களுடன் ஒளிரும் வால்நுனிகள்

(fluorescent tags) இணைக்கப்படுகின்றன. சங்கிலி உற்பத்தியை முடிக்கும்போது, இந்த வால் நுனிகள் DNA மூலக்கூறுகளுடன் இணைந்து கொள்கின்றன. ஒரு வரிசைப்படுத்தும் ஜெல்லில் சங்கிலி முடியும் வினைகளைக் கண்டறிய 4 வெவ்வேறு வகை ஒளிரும் நுனிகள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. DNA பட்டைகள் எலக்ட்ரோபோரசிஸால் பிரிக்கப்பட்டு, ஒளிரும் தன்மையால் அடையாளம் காணப்படுகின்றன. லேசர் கற்றையில் ஒளிரும் நான்கு சாயங்கள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன (படம் 16.17.).



படம் 16.17. தானியங்கி வரிசைப்படுத்தும் முறை

புதிதாய் உருவாக்கப்படும் வரிசைப்படுத்தல் தொழில்நுட்பங்கள் (Technologies Under Development)

உயர்-தொழில்நுட்ப வரிசைப்படுத்தல் (High-throughput sequencing)

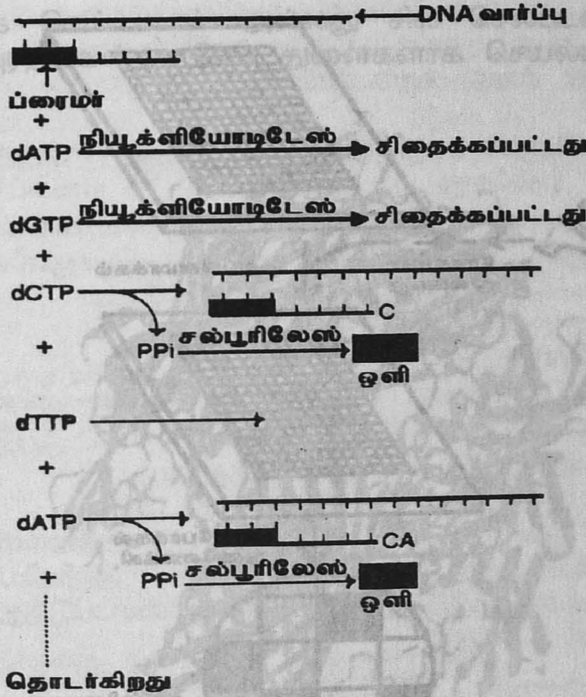
குறைந்த செலவில் வரிசைப்படுத்தலை செய்ய வேண்டும் என்ற நோக்கத்தில் ஏராளமான புதிய உயர் தொழில்நுட்ப முறைகள் கண்டுபிடிக்கப்பட்டு வருகின்றன. இம்முறைகளில் ஒரே நேரத்தில் பல

வரிசைப்படுத்தல் நிகழ்வுகள் நிகழ்த்தப்பட்டு, ஒரே சமயத்தில் லட்சக்கணக்கான பேஸ்கள் வரிசைப்படுத்தப்படுகின்றன.

1.பைரோ வரிசைப்படுத்தல் (Pyrosequencing) **அல்லது சுழற்சி வரிசை வரிசைப்படுத்தல்** (Cyclic – Array sequencing)

ஒரு DNA வார்ப்பு நகலெடுக்கப்படும் போது நான்கில் எந்த ஒரு பேஸ் (A,G,C,T) ஒவ்வொரு சுழற்சியிலும் சேர்த்துக் கொள்ளப்படுகிறது என்ற தத்துவத்தை அடிப்படையாகக் கொண்ட முறை இது. இம்முறையில் டை-டிஆக்ஸி நியூக்ளியோடைடுகள் சேர்க்கப்படாமல் (ddNTPS) நேரிடையாக வார்ப்பு நகலெடுக்கப் படுகிறது. புதிய இழை உற்பத்தி செய்யப்படும்போது எந்த வரிசையில் டிஆக்ஸி நியூக்ளியோடைட்கள் (ddTPS) சேர்க்கப்படுகின்றன என்பது கண்டுபிடிக்கப்பட்டு, வினை தொடர்ந்து நடைபெறும்போது வரிசையைக் கண்டறியலாம். எந்த ஒரு பேஸ், சேர்க்கப்படுகிறது என்பதை எளிதாக அறியலாம். எவ்வாறு எனில், ஒவ்வொரு நியூக்ளியோடைட் சேர்க்கப்படும்போதும் ஒரு பைரோபாஸ்பேட் மூலக்கூறு வெளியேறும். இதன் வெளியேற்றத்தை **வேதி ஒளிர்** (chemiluminescence) **முறை** மூலம் அறியலாம்.

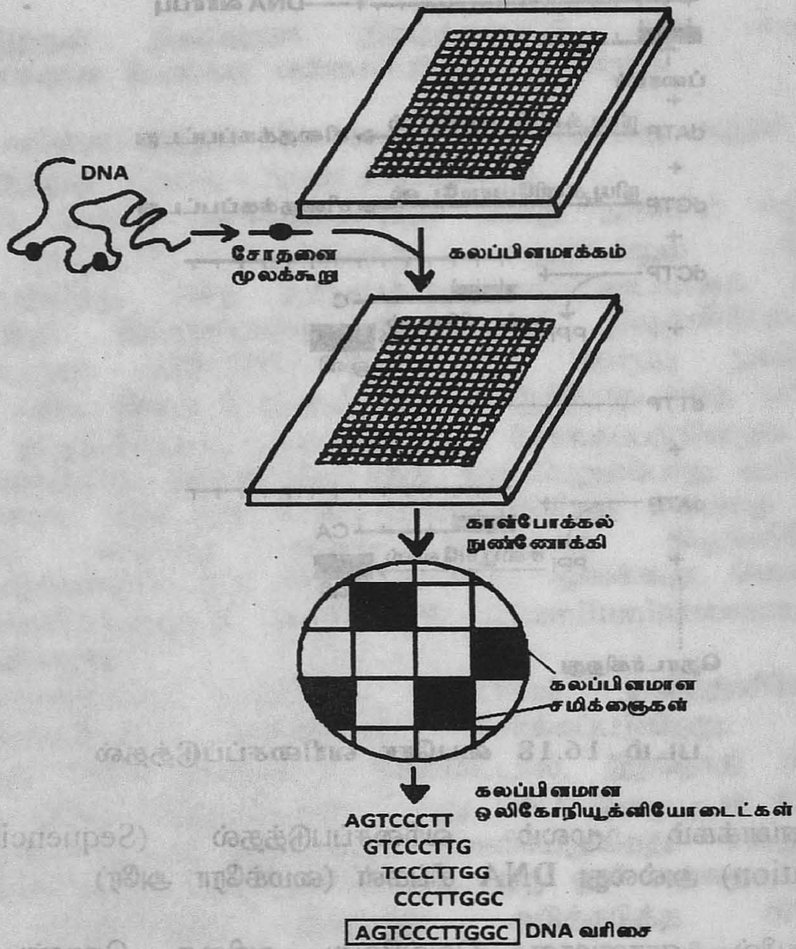
இம்முறையில் ஒவ்வொரு dNTPயும் தனித்தனியே ஒரு நியூக்ளியோடிடேஸ் நொதியுடன் சேர்க்கப்படுகிறது. புதிதாய் உருவாகும் DNA இழையுடன் சேராவிட்டால், இந்நொதி dNTPயை சிதைத்து விடும். நியூக்ளியோடைட் புது DNA இழையுடன் சேர்ந்ததும் ஒரு பைரோபாஸ்பேட் மூலக்கூறு வெளியேறுகிறது. சல்பூரைலேஸ் என்ற நொதி இந்த பைரோபாஸ்பேட்டை ஒரு ஒளி கற்றையாக (வேதி ஒளிர்) மாற்றுகிறது. இவ்வாறு அடுத்தடுத்த dNTPக்கள் சேர்க்கப்படும்போது, வளரும் DNA சங்கிலியின் வரிசை எளிதாகக் கண்டுபிடிக்கப்படுகிறது (படம்16.18.). இம்முறையில் பைரோபாஸ்பேட் மூலக்கூறு கண்டுபிடிக்கப்படுவதே அடிப்படை யாதலால், இம்முறைக்கு பைரோ வரிசைப்படுத்தல் என்று பெயர். இம்முறையில் எலக்ட்ரோபோரசிஸ் தேவைப்படாததால் இது ஒரு வேகமான முறை, ஆனால் இது 200 நியூக்ளியோடைட் வரிசைகளை மாத்திரமே கண்டறிய உதவும். ஆனால் தற்சமயம் இம்முறை பெரிதும் மேம்படுத்தப்பட்டு வருகிறது.



படம் 16.18 பைரோ வரிசைப்படுத்தல்

2.கலப்பினமாக்கம் மூலம் வரிசைப்படுத்தல் (Sequencing by hybridization) அல்லது DNA சிப்கள் (மைக்ரோ அரே)

இம்முறையில் ஏராளமான வெவ்வேறு வரிசை கொண்ட DNA புரோபுகள் நைலான் அல்லது கண்ணாடி மீது அசையா தன்மையில் நிலைப்படுத்தப்படுகின்றன. இந்த புரோப்கள் DNA அல்லது செயற்கையாக உருவாக்கப்படும் ஒலிகோநியூக்ளியோடைட்களாகும். இவற்றைக் கொண்ட DNA சிப் மீது வரிசை கண்டறியப்பட வேண்டிய ஒளிருட்டப்பட்ட DNA மூலக்கூறு சேர்க்கப்படுகிறது



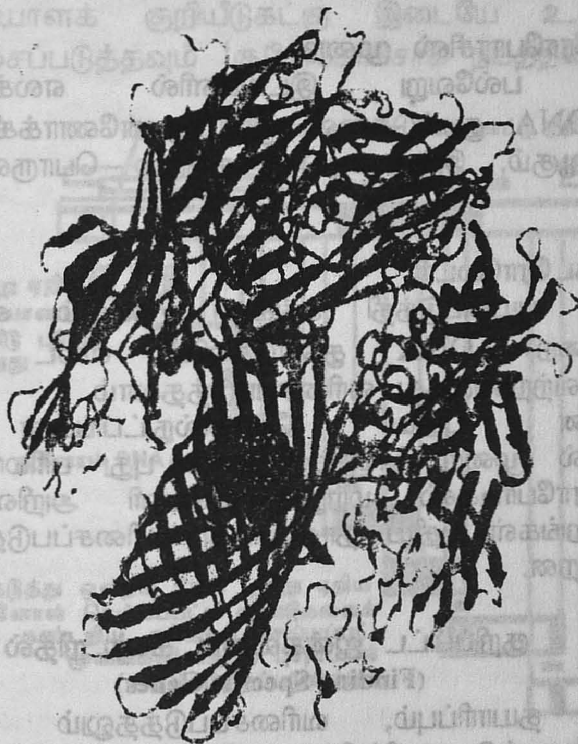
படம் 16.19. மைக்ரோ அரே

இவ்விரண்டுக்கும் இடையே பூர்த்தி செய்யப்படும் வரிசைகட்கு இடையே கலப்பினமாக்கம் நடைபெறுகிறது. இவ்வாறு கலப்பினத்தில் ஈடுபட்ட ஒலிகோநியூக்ளியோடைடுகளை கான்போக்கல் நுண்ணோக்கி மூலம் கண்டறியலாம். ஒவ்வொரு கலப்பினத்தில் ஈடுபடும் ஒலிகோ நியூக்ளியோடைடும் DNA புரோபில் காணப்படும் நியூக்ளியோடைட் வரிசையைக் குறிக்கும். DNAவின் வரிசையை கலப்பினமாக்க ஒலிகோ நியூக்ளியோடைட்களின் ஒன்றன்மேல் ஒன்று ஏறிய அமைப்பிலிருந்து கண்டறியலாம் (படம் 16.19.).

3.நானோபோர் வரிசைப்படுத்தல் (nanopore sequencing)

நானோபோர் எனப்படும் மிக நுண்ணிய துளை மூலம் DNA செல்லும் போது அதன் வரிசையைக் கண்டறியும் முறை இது. நானோபோர் ஒரு நானோமீட்டர் உள்விட்டம் கொண்ட துளை. இதை சிலிகானில்

செயற்கையாக செய்யலாம் அல்லது சில செல்படலத்திற்கு குறுக்கே காணப்படும் புரதங்கள் நானோ துளைகளாக செயல்படும்.



படம் 16.20. நானோபோர் வரிசைப்படுத்தல்

ஒரு நானோபோரை கடத்தும் திரவத்தில் அமிழ்த்தி அதன் குறுக்கே மின்சாரம் செலுத்தப்படும்போது நானோ துளையின் வடிவம் மற்றும் அளவிற்கேற்ப துளையில் மின்னோட்டம் காணப்படும். இப்போது இத்துளை வழியே DNA செல்லும்போது மின்னோட்ட அளவில் மாற்றம் காணப்படும். எலக்ட்ரோபோரசிஸ் அல்லது நொதிகள் உதவியால் நானோ துளை வழியே DNAவை செலுத்தலாம். ஒரு ஊசியின் துளை வழியே நூல் செலுத்தப்படுவதைப் போல் நானோ துளை வழியே DNAவின் ஒவ்வொரு பேஸும் நுழையும். A,C,G,T ஆகியவை உள்ளே நுழைந்து செல்லும் போது மின்னோட்டத்தில் ஏற்படும் மாற்றங்களும் வேறுபட்டு காணப்படும். இதன் மூலம் எந்த பேஸ் உள்ளே சென்றது என்பதை அறியலாம். இம்முறையில் ஏராளமான மாற்றங்கள் செய்யப்பட்டு, புதுப்புது முறைகள் கண்டுபிடிக்கப்படுகின்றன. ஒரு புதிய முறையில் சர்க்கரை பூசப்பட்ட ஒரு புரத சுரங்கத்தின் வழியே DNA பேஸ்கள் நுழைக்கப்படும்போது, அந்த பேஸ்கள் அடையாளம் காணப்படுகின்றன (படம் 16.20.).

ப்ரான்டன், டீமர் (Branden, Temer) ஆகியவர்கள் உருவாக்கிய புதிய புரத நானோ துளை மூலம் மனித ஜீனோமை 2 மணிநேரத்தில் வரிசைப்படுத்தலாம் எனக் கூறப்படுகிறது.

4.நுண் எலக்ட்ரோபோரசிஸ் முறை

இம்முறையில் பல்வேறு இடங்களில் எலக்ட்ரோபோரசிஸால் பிரிக்கப்பட்ட DNA துண்டுகளை ஒளி நுண்ணோக்கிகள் உதவியால் கண்டறிவது ஆகும். இம்முறையில் நகரும் பொருளின் பிம்பத்தைக் கண்டறியலாம்.

5.மாஸ் ஸ்பெக்ட்ரோமெட்ரி

இம்முறையைப் பயன்படுத்தி சங்கிலி முடியும் வினையில் (டை-டிஆக்ஸி முறை) DNA துண்டுகளின் எடை வேறுபாடுகளைக் கண்டறிந்து அவற்றிலிருந்து வரிசைப்படுத்தலாம்.

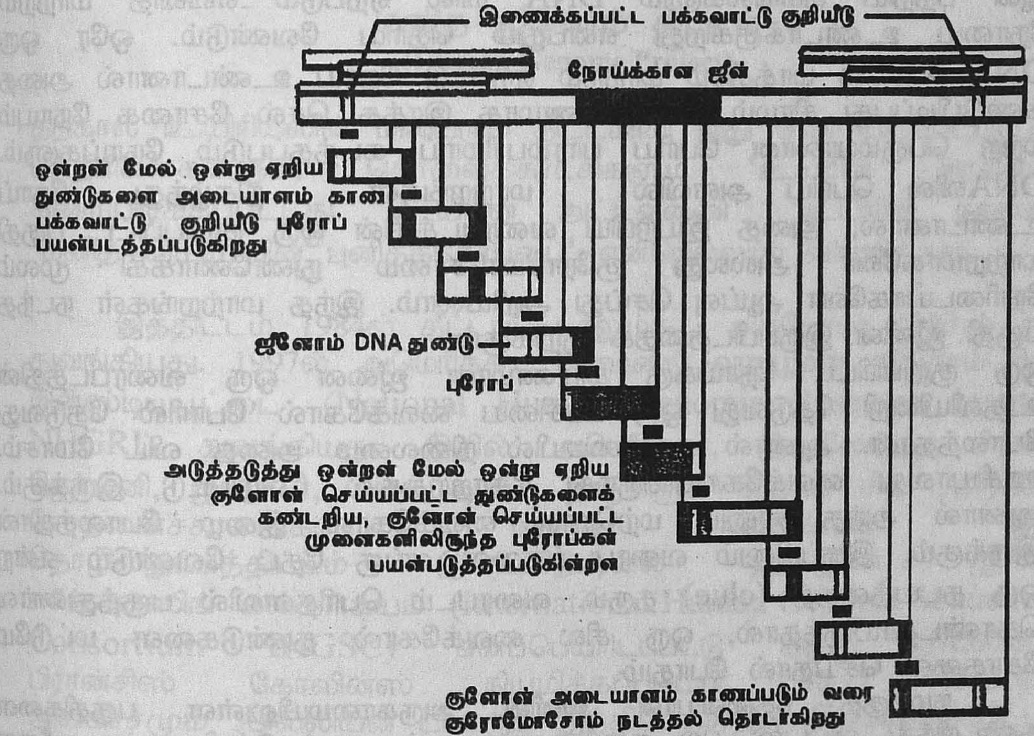
ஏராளமான புதிய தொழில்நுட்பங்கள் புகுத்தப்பட்டு வரிசைப்படுத்தல் முறை நாளுக்கு நாள் புது பரிமாணம் எடுக்கிறது. உயிரியல் ரோபோடிக்ஸ் மற்றும் கணனி அறிவியலில் ஏற்படும் புதுப்புது மாற்றங்கள் புதிய தானியங்கி வரிசைப்படுத்தும் முறைகட்கு வழி வகுக்கின்றன.

குறிப்பிட்ட ஜீன்களைக் கண்டறிதல்
(Finding Specific Genes)

வரைபடங்கள் தயாரிப்பும், வரிசைப்படுத்தலும் எளிது. ஆனால் அவற்றைக் கொண்டு குறிப்பிட்ட ஜீன்களைத் தேடி கண்டிபிடிப்பது கடினம். அதற்கு இப்போதுள்ள அனைத்து செயல் முறைகளையும் பயன்படுத்த வேண்டும். மேலே விவரித்த முறைகள் மூலம் வரிசைகள் கண்டுபிடிக்கப்பட்ட பின்னரும் கூட தற்போதுள்ள வரைபட தயாரிப்பு முறைகள் பல பெரிய இடைவெளிகளைக் கொண்டுதான் உள்ளது. இம்முறையை முழுமையாக்க ஒரே ஒரு குரோமோசோமை நுண் முறையில் சிதைத்து, அதாவது நமக்கு தேவையான நடுப்பகுதியை வெட்டி எடுத்து, அதை சிறு துண்டுகளாக்கி, PCR அல்லது குளோனிங் மூலம் பெரிதாக்கி அத்துண்டை பின்பு வரைபடமாக்கி மேலே விவரித்த முறைகள் மூலம் வரிசைப்படுத்த வேண்டும்.

இடைவெளிகளை நிரப்ப, **'குரோமோசோம் நடத்தல்'** பயன்படும். இதில் ஒரு வரிசை தெரிந்த ப்ரைமரை வரிசையற்ற ஜீனோம் நூலகத்திலிருந்து பெறப்பட்ட ஒரு குளோனுடன் கலப்பினம் செய்து ஒரு சிறு பூர்த்தி செய்யும் இழை உருவாக்கப்படும் (இதற்கு **'குரோமோசோம் நெடுக நடத்தல்'** என்று பெயர்). இந்த பூர்த்தி செய்யப்பட்ட சிறு இழை வரிசைப்படுத்தப்பட்டு, மேலும் நடக்க அடுத்த ப்ரைமராக பயன்படுத்தப்படும். இதுபோன்றே அருகே உள்ள ஏற்கனவே வரிசைப்படுத்தப்படாத பகுதி அடையாளம் காணப்பட்டு வரிசைப்படுத்தப்படும். ஆகவே இம்முறையில் குரோமோசோம் ஒரு

முனையிலிருந்து மற்றொரு முனைக்கு முறையாக திட்டமிட்டு வரிசைப்படுத்தப்படுகிறது. ப்ரைமர்கள் வேதிய முறைப்படி உற்பத்தி செய்யப்படுவதால் இந்த முறையில் உள்ள பாதகமான அம்சம் நீண்ட தூரத்தை வரிசைப்படுத்த ஏராளமான ப்ரைமர்கள் தேவைப்படுவதுதான். இரண்டு அடையாளக் குறியீடுகட்கு இடையே உள்ள குறிப்பட்ட ஜீன்களை வரிசைப்படுத்தவும் 'குரோமோசோம் நடத்தல்" பயன்படுகிறது (படம் 16.21.).



படம் 16.21. குரோமோசோம் நடத்தல் மூலம் ஒரு நோய்க்கான ஜீனை குளோன் செய்தல்

தற்போதுள்ள மனித ஜீன் வரைபடத்தில் 1000 அடையாளக் குறியீடுகள் அதாவது 3 மில்லியன் bpகட்கு இடையே ஒரு அடையாளக் குறியீடு என்ற அளவில் உள்ளது. ஓவ்வொரு ஜோடி குறியீடுகட்கு இடையே 100 ஜீன்கள் இருப்பதாய் கருதப்படுகிறது. ஒரு குறிப்பிட்ட பகுதியில் மரபியல் மற்றும் இயற்பியல் வரைபடங்களை ஒருங்கிணைந்து புதிய ஜீன்களைக் கண்டறியலாம். மரபியல் வரைபடம் அடிப்படையில் ஜீன் வரிசையை விவரிக்கிறது. சில சமயம் ஜீன் அமைவிடம் பற்றிய குத்து மதிப்பான தகவலும் கிடைக்கும். ஆனால் இத்தகவல்களை ஜாக்கிரதையாக கையாள வேண்டும். ஏனெனில் குரோமோசோமின் அனைத்து பகுதியிலும் மறுஇணைவு ஒரே

மாதிரியாய் இருப்பதில்லை. ஆகவே மரபியல் வரைபடம் இயற்பிய வரைபடத்தை ஒப்பிடும்போது சில இடங்களில் நீண்டும் சில இடங்களில் சுருங்கியும் காணப்படும், அதாவது அந்த வரைபடத்தை ஒரு ரப்பர் பேண்டில் வரைந்துள்ளதைப்போல. ஒரு குறிப்பிட்ட நோயை உண்டாக்கும் ஜீனைக் கண்டுபிடிக்க வேண்டுமெனில், நமக்கு அந்த ஜீன் பற்றிய தகவல்களும் DNA வில் ஏற்படும் எவ்வித மாற்றம் நோயை உண்டாக்குகிறது என்பதும் தெரிய வேண்டும். ஒரே ஒரு DNA பேஸில் மாத்திரம் மாற்றம் ஏற்பட்டு நோய் உண்டானால் அதை கண்டுபிடிப்பது சிரமம். உதாரணமாக இரத்த செல் சோகை நோயும் மற்ற பெரும்பாலான பெரிய பாரம்பரிமாய் கடத்தப்படும் நோய்களும். DNAவில் பெரிய அளவில் மாற்றங்கள் நிகழ்ந்து நோய் உண்டானால், அதை இயற்பிய வரைபடத்தின் ஒரு குறிப்பிட்ட பகுதி மாற்றமாகவோ அல்லது குரோமோசோமை நுண்ணோக்கி மூலம் நேரிடையாகவோ ஆய்வு செய்து அறியலாம். இந்த மாற்றங்கள் நடந்த பகுதி ஜீனின் இருப்பிடத்தைக் குறிக்கும்.

ஒரு குறிப்பிட்ட நோய்க்கு காரணமான ஜீனை ஒரு வரைபடத்தின் உதவியின்றி தேடுவது ஒரு ஊசியை வைக்கோல் போரில் தேடுவது போலத்தான். ஆனால் உண்மையில் நிலைமை அதை விட மோசம். ஊசியாவது வைக்கோலிலிருந்து தோற்றத்தில் வேறுபட்டு இருக்கும். ஆனால் அந்த ஜீனும் மற்றொரு வைக்கோல் இழை போலத்தான் இருக்கும். இருப்பினும் வரைபடங்களை எங்கு தேட வேண்டும் என்ற ஒரு தடயத்தைத் (clue) தரும். வரைபடம் பெரிதளவில் பகுத்துணர்வு கொண்டதாயிருந்தால், ஒரு சில வைக்கோல் துண்டுகளை மட்டுமே சோதனை செய்தால் போதும்.

நமக்குத் தேவையான ஜீனின் அருகாமையிலுள்ள பகுதிகளை கண்டறிந்து விட்டால் பல நடைமுறைகளைப் பயன்படுத்தி அந்த ஜீனை கண்டறியலாம். ஏற்கனவே இல்லாமலிருந்தால் அந்த ஜீனுக்கு அருகாமையில் உள்ள பகுதிக்கு ஒரு ஒழுங்கான ஜீன் நூலகத்தை உருவாக்க வேண்டும். இந்த நூலகத்தில் கிடைக்கும் DNA துண்டுகளில் பல் உருதோற்றங்களை கண்டறியலாம். பின் இப்பகுதியில் மரபியல் வரைபடம் தயாரித்து நமக்கு தேவையான ஜீனின் குறிப்பிட்ட இடத்தை அறிய முயலலாம். மேலும், இந்த பகுதிகளின் DNA துண்டுகளை புரோபுகளாக பயன்படுத்தி வெளிப்படுத்தக்கூடிய DNA வரிசைகளையோ (அதாவது RNAவாக படி எடுக்கப்படும் DNA வரிசைகள்) அல்லது வெளிப்படுத்தப்படாத DNA வரிசைகளையோ தேடலாம். பெரும்பாலான ஜீன்கள் இம்மாதிரியான வரிசைகளைக் கொண்டிருக்கும். பின் ஒவ்வொரு ஜீனும் ஆராயப்பட வேண்டும். உதாரணமாக கல்லீரல் நோய்க்கு காரணமான ஜீன் கல்லீரலில் மட்டுமே வெளிப்படலாம். மற்ற திசு அல்லது உறுப்புகளில் வெளிப்படுத்துவது அரிது. இம்மாதிரியான சான்றுகள் தேடலை மேலும் எளிதாக்கும். இறுதியாக, ஒரு சந்தேகப்படக்கூடிய ஜீனை ஆரோக்கியமான மனிதனிலும் நோயுற்ற மனிதனிலும் வரிசைப்படுத்த வேண்டும். இவ்விரண்டையும் ஒப்பிட்டு DNA அமைப்பு மாற்றம்

அறியப்பட்டால் அந்த ஜீனை கண்டுபிடித்து விடலாம். இதற்கு இறுதியான சான்று ஒரு DNA மாற்றத்தால் ஒரு செல்லில் மாற்றம் ஏற்படுகிறது என்று கொண்டால், அந்த DNAவை சரியான வரிசையில் சரிசெய்து நிகழ்ந்த மாற்றம் மீண்டும் சாதாரண நிலைக்கு திரும்புகிறதா என சோதிப்பது தான்.

மனித ஜீனோம் திட்டம்
(Human Genome Project)

தற்கால உயிரியலின் மாபெரும் திட்டமான இது வெளியிடப்பட்டபோது, பத்திரிக்கைகளும், தொலைக்காட்சிகளும் 'உயிரின் இரகசியம்' கண்டுபிடிக்கப்பட்டது. 'உயிரின் அட்டவணை', 'உயிரின் நூலகம்', 'மனித மரபியலின் புனிதக்கோப்பை' என்றெல்லாம் வர்ணித்தன.

இத்திட்டம் 1984ல் தீட்டப்பட்டாலும்கூட அக்டோபர் 1990-ல் தான் துவங்கியது. 1997ல் அமெரிக்கா, நேஷனல் ஹுயூமன் ஜீனோம் ரிசர்ச் இன்ஸ்டிடியூட்டை (National Human Genomic Research Institute-NHGRI) துவங்கியது. இதில் அமெரிக்கா, இங்கிலாந்து, பிரான்சு, ஜெர்மனி, ஜப்பான், சீனா ஆகிய நாடுகளும் மேலும் சில நாடுகளின் சோதனைச்சாலைகளும் சேர்ந்து இயங்கின. இந்த தொழில்நுட்பத்திட்டம் இன்டர்நேஷனல் ஹுயூமன் ஜீனோம் ஸீக்வன்ஸிங் கன்சார்டியம் (International Human Genome Sequencing Consortium- IHGSC) எனப்பெயரிடப்பட்டு அதன் தலைவராக பிரான்சிஸ் கோலின்ஸ் நியமிக்கப்பட்டார். 10-15 வருடகால அவகாசமும் 3பில்லியன் டாலரும் இத்திட்டத்திற்கு நிர்ணயிக்கப்பட்டது. செலிரா ஜீனோமிக்ஸ் என்ற அமெரிக்க தனியார் நிறுவனமும் கிரேக் வெண்டர் (Craig Venter) தலைமையில் இத்திட்டத்தில் இறங்கியது. இரு குழுவினருக்கும் இடையே இருந்த நல்ல கூட்டுறவால், மிக வேகமாக ஆய்வுகள் நடந்தன. ஜீன் 26, 2000ம் ஆண்டில் அமெரிக்க அதிபர் கிளின்டண், பிரிட்டன் பிரதமர் டோனி ப்ளேயர் முன்னிலையில், கோலின்ஸ் மற்றும் வெண்டர் மனித ஜீனோம் திட்டத்தின் முதல் முடிவுகளை அறிவித்தனர். பின் இவைகள் 'நேச்சர்' (Nature) மற்றும் 'சயின்ஸ்' (Science) பத்திரிக்கைகளில் வெளியிடப்பட்டன. செப்டம்பர் 4, 2007ல் கிரேக் வெண்டர் குழுவினர், அவரது முழு DNA வரிசையை வெளியிட்டு அதில் 6 பில்லியன் நியூக்ளியோடைட்கள் இருப்பதாய் அறிவித்தனர்.

திட்டம் எவ்வளவு நிறைவேறி உள்ளது?

சிலர் மனித ஜீனோம் வரிசைப்படுத்தப்பட்டு விட்டது என்று கூறிக் கொண்டாலும்கூட, கிட்டத்தட்ட 92.3% ஜீனோம் வரிசைப்படுத்தப்பட்டு விட்டதாகக் கொள்ளலாம். மனித ஜீனோமின் பெரும்பாலான பகுதிகள்

2003லேயே செய்து முடிக்கப்பட்டு விட்டாலும்கூட, ஜீனோமில் உள்ள மீதம் உள்ள பகுதிகள் இன்னும் முடியவில்லை என்பதுதான் உண்மை. முதலாவதாக, குரோமோசோமின் மையப் பகுதியான சென்ட்ரோமியர்கள். இவை அடிக்கடி திரும்பத் திரும்ப வரும் DNA வரிசைகளைக் கொண்டிருப்பதால், இவற்றை தற்போதுள்ள தொழில் நுட்பங்கள் மூலம் வரிசைப்படுத்துதல் சிரமம். சென்ட்ரோமியர்கள் பல மில்லியன் பேஸ் இணை நீளம் கொண்டுள்ளதால் இதன் பெரும்பகுதி இன்றும் வரிசைப்படுத்தப்படவில்லை. இரண்டாவதாக, குரோமோசோம்களின் முனைகளான டீலோமியர்கள். இவையும் அடிக்கடி திரும்பத் திரும்ப வரும் DNA வரிசைகளை கொண்டுள்ளதால் 46 குரோமோசோம்களின் டீலோமியர்களும் வரிசைப்படுத்தப்படவில்லை. மூன்றாவதாக, ஒவ்வொருவரின் ஜீனோமில் உள்ள சில அமைவிடங்களில் (loci) காணப்படும் பல ஜீன் குடும்பங்கள் (multi gene families). இவற்றை குறிஇலக்கு முறைமூலம் வரிசைப்படுத்துதல் சிரமம். இந்த பல ஜீன் குடும்பங்கள் தடைகாப்பு செயலுக்கு காரணமான முக்கிய புரதங்களைக் குறிக்கின்றன. இவற்றைத் தவிர இன்னும் பூர்த்தி செய்யப்படாத பல இடைவெளிகளும் உள்ளன.

நோக்கமும் கண்டுபிடிப்புகளும்

மனித ஜீனோம் திட்டத்தின் முக்கிய நோக்கம், மனித ஜீனோம்களில் உள்ள DNAவை முழுமையாக வரிசைப்படுத்துவதுதான். பின் இந்த தகவல்களை இன்டர்நெட் டேட்டாபேஸில் வெளியிடுவதன் மூலம் யார் வேண்டுமானாலும் இத்தகவல்களைப் பயன்படுத்திக் கொள்ளலாம். ஒவ்வொரு மனிதனின் ஜீன் வரிசையும் தனித்தன்மை வாய்ந்தது. HGP வெளியிட்ட தகவல்கள் ஒவ்வொருவரின் ஜீனோம் வரிசையைக் குறிக்காது. இது ஜீன்களை நன்கொடையாகக் கொடுத்த ஒருவரின் ஜீனோம் தொகுப்பாகும். இதைப்பயன்படுத்தி பிற்காலத்தில் ஒவ்வொருவருக்கும் இடையே உள்ள ஜீன் வரிசையை அறியலாம்.

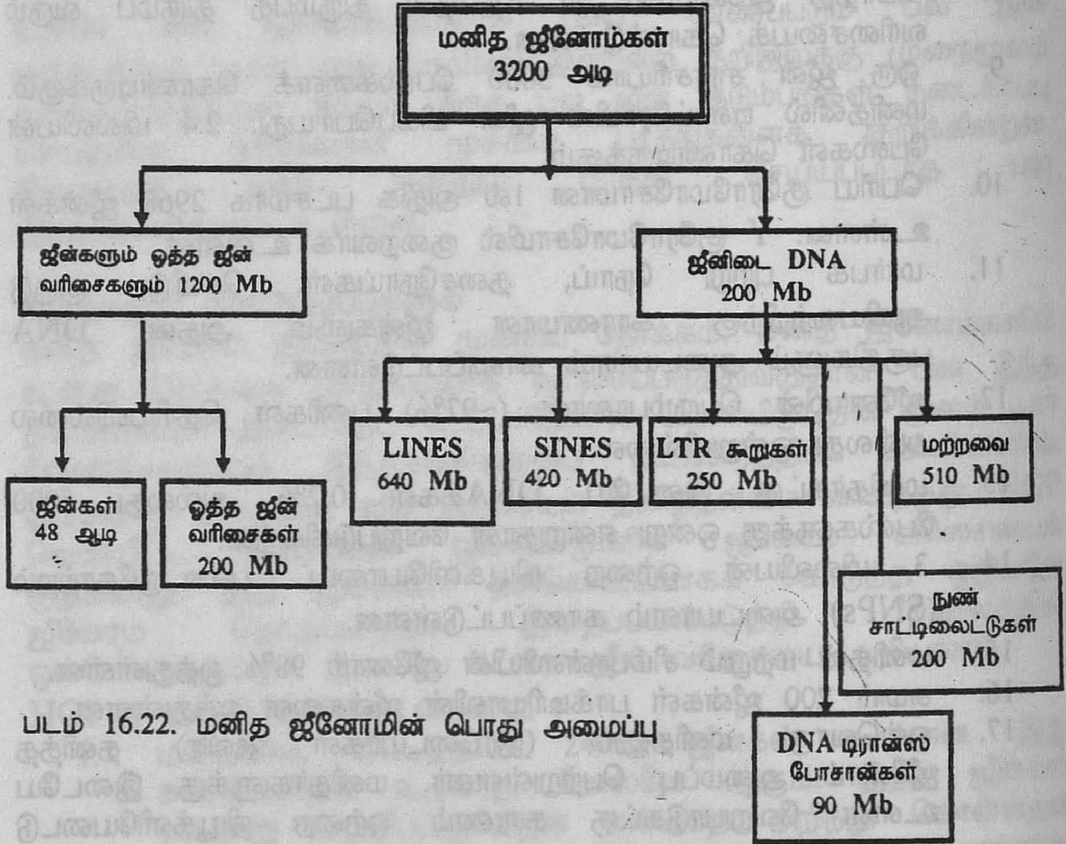
HGP-ன் கண்டுபிடிப்புகள் வருமாறு

1. மனிதனில், கிட்டத்தட்ட 24000 ஜீன்கள் உள்ளன. இது சுண்டெலியில் உள்ளது போலவே ஆகும். இந்த ஜீன்கள் எவ்வாறு வெளிப்படுகின்றன என்பதை அறிந்து கொள்வதன் மூலம் நோய்கள் எவ்வாறு உண்டாகிறது என்பதற்கான தடயங்கள் கிடைக்கும்.
2. எல்லா மனித இனமும் 99.99% ஒரே மாதிரியாய் உள்ளன. ஆகவே இனவேறுபாடு மரபியல் ரீதியில் முக்கியத்துவம் பெறாது. எல்லா மனிதர்களும் ஒரே ஒரு தாயிடமிருந்து தோன்றினர் என்பது இதிலிருந்து தெரிகிறது.
3. பெரும்பாலான திடீர் மாற்றங்கள் இனத்தின் ஆண்களிலேயே உண்டாகின்றன.

4. இந்த ஆய்வுகள் மூலம் மனிதன் 25 மில்லியன் வருடங்களுக்கு முன் குரங்கிலிருந்து எவ்வாறு வேறுபட்டு உருவானான் என்பதை புரிந்து கொள்ள முடியும். இது 'மரபியல் தொல்லுயிரியல்' (genetic archaeology) எனப்படும்.
5. மனித ஜீனோம் 3200Mb (அல்லது 3.2Gb) கொண்டது. அதாவது 3.2 பில்லியன் பேஸ் இணைகள் (3,200,000,000) உள்ளன.
6. 1.1-1.5 சதவீத ஜீனோம் புரதங்களைக் குறிக்கின்றன.
7. மொத்த ஜீனோமில் 24 சதவீதம் இன்ட்ரான்களால் ஆனது. இவை திரும்பத் திரும்ப வரும் வரிசைகள் கொண்டு எந்த பணியையும் குறிப்பதில்லை.
8. மொத்த ஜீனோமில் 50 சதவீதம் திரும்பத் திரும்ப வரும் வரிசையைக் கொண்டுள்ளன.
9. ஒரு ஜீன் சராசரியாக 3000 பேஸ்களைக் கொண்டிருக்கும். மனிதனில் டிஸ்ட்ரோபின் ஜீன் மிகப்பெரியது. 2.4 மில்லியன் பேஸ்கள் கொண்டிருக்கும்.
10. பெரிய குரோமோசோமான 1ல் அதிக பட்சமாக 2968 ஜீன்கள் உள்ளன. Y குரோமோசோமில் குறைவாக உள்ளன.
11. மார்பக புற்று நோய், தசைநோய்கள், செவிடு, குருடு ஆகியவற்றிற்கு காரணமான ஜீன்களும் அதன் DNA பகுதிகளும் அடையாளம் காணப்பட்டுள்ளன.
12. ஜீனோமின் பெரும்பாலான் (~97%) பணிகள் தெரியவில்லை அல்லது ஒன்றுமில்லை.
13. மனிதர்கட்கு இடையே DNAக்கள் 0.2% அல்லது 5000 பேஸ்களுக்கு ஒன்று என்றுதான் வேறுபடுகின்றன.
14. 3 மில்லியன் ஒற்றை நியூக்ளியோடைட் பல்உருதோற்றம் (SNPs) அடையாளம் காணப்பட்டுள்ளன.
15. மனிதன் மற்றும் சிம்பான்ஸியின் ஜீனோம் 98% ஒத்துள்ளன.
16. சுமார் 200 ஜீன்கள் பாக்டீரியாவின் ஜீன்களை ஒத்துள்ளன.
17. ஒவ்வொரு மனிதனும் (இரட்டையர்கள் தவிர) தனித்த ஜீனோம் அமைப்பு பெற்றுள்ளனர். மனிதர்களுக்கு இடையே உள்ள வேறுபாடுகட்கு காரணம் ஒற்றை நியூக்ளியேடைடு பல்உருதோற்றம் (SNPs) ஆகும். ஒரு சிலரின் ஜீனோமில் ஒரு நியூக்ளியோடைடும் (அதாவது A) மற்றவர்களில் வேறு நியூக்ளியோடைடும் (அதாவது G) இருக்கலாம். இவ்வாறு வேறுபட்டு இருக்கும் இடங்களை குறிப்பதே SNP ஆகும். ஒவ்வொரு 1000 பேஸ் இணைகட்கும் ஒரு SNP தோன்றுவதாய் கருதப்படுகிறது. கிட்டத்தட்ட 3 மில்லியன் SNPக்கள் உள்ளன. இவற்றில் பாதி அடையாளம் காணப்பட்டுவிட்டன.

யார் HGP திட்டத்திற்கு ஜீன்களை நன்கொடையாக அளித்தனர்?

IHGSC-ல் அறிவியலாளர்கள் ஏராளமான கொடையாளிகளிடமிருந்து இரத்தம் (பெண்கள்), விந்தணு (ஆண்கள்) ஆகிய மாதிரிகளைச் சேகரித்தனர். சேகரிக்கப்பட்டதில் சில மாத்திரம் பயன்படுத்தப்பட்டன. அந்த மாதிரிகள் யாருடையது என்பது அளித்தவர்களுக்கும், அறிவியலாளர்களுக்கும் தெரியாது. செலிரா ஜீனோமிக்ஸில் 5 நபர்களின் DNA பயன்படுத்தப்பட்டது. மொத்தம் சேகரித்த 21 மாதிரிகளில் தம்முடையதும் ஒன்று என்று வெண்டர் தெரிவித்தார்.



படம் 16.22. மனித ஜீனோமின் பொது அமைப்பு

திட்டம் எவ்வாறு செயல்படுத்தப்பட்டது?

ஜீனோம்கள் முதலில் கிட்டத்தட்ட 1,50,000 பேஸ் இணைகள் நீளத்திற்கு வெட்டப்பட்டன. பின் இவை பாக்டீரிய செயற்கை குரோமோசோம்கள் (BACs) எனப்படும் உயிர் கடத்தியுடன் இணைக்கபட்டன. கடத்திகள் மரபியல் பொறியியலின் மூலம்

உருவாக்கப்பட்ட பாக்டீரியாவின் குரோமோசோம்களிலிருந்து பெறப்பட்டவை.

கடத்தியுடன் இணைந்த ஜீன்கள், பாக்டீரியா விருந்தோம்பியுள் நுழைக்கப்பட்டு DNA இரட்டித்தல் முறைமூலம் ஏராளமான எண்ணிக்கையில் உருவாக்கப்பட்டன. பின் இவை "குறிஇலக்கு திட்டம்" (shot gun method) மூலம் வரிசைப்படுத்தப்பட்டு மீண்டும் சேகரிக்கப்பட்டது. இதிலிருந்து 1,50,000 பேஸ் இணைவிகள் கொண்ட பெரிய DNA துண்டுகள் சேகரிக்கப்பட்டு, குரோமோசோம்கள் உருவாக்கப்பட்டன. இதற்கு 'படிப்படியான குறியிலக்கு முறை' (heirarchial shot gun method) என்று பெயர். ஏனெனில் முதலில் ஜீனோம்கள் பெரிய துண்டுகளாக உடைக்கப்படுகின்றன. பின் அவை வரைபடங்கள் ஆக்கப்பட்டு வரிசைப்படுத்தபடுகின்றன. செலிரா நிறுவனம் சற்றே சிரமமான முறையைத் தேர்ந்தெடுத்து, "முழு ஜீனோம் குறியிலக்கு வரிசைப்படுத்துதல்" முறை மூலம் செயல்படுத்தியது.

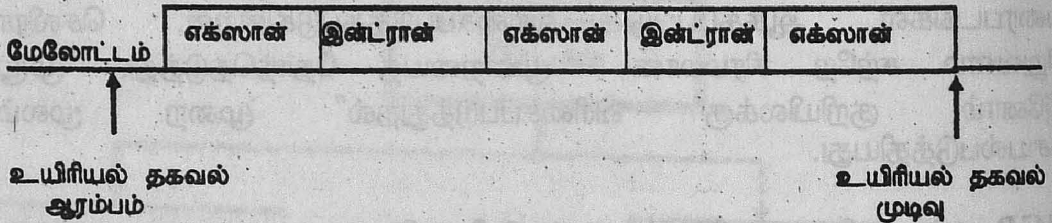
HGP ஏன் மாபெரும் திட்டம் எனப்படுகிறது?

1. மனித ஜீனோமில் கிட்டத்தட்ட $3.3 x 10^9$ பேஸ் இணைகள் உள்ளன. ஒரு பேஸ் இணைவியை வரிசைப்படுத்த 3 அமெரிக்க டாலர்கள் செலவானால், மொத்தச் செலவு 10 பில்லியன் அமெரிக்க டாலர்கள்.
2. பேஸ் இணைவி வரிசைகளை புத்தக வடிவில் சேமிப்பதாய் கொள்வோம். ஒவ்வொரு பக்கத்தில 1000 எழுத்துகள் இருப்பதாகவும் புத்தகத்தில் 1000 பக்கங்கள் இருப்பதாகவும் கொண்டால், மொத்தத்தில் தகவல்களை சேமிக்க இது போன்ற புத்தகங்கள் 3300 தேவை.
3. ஒரு தட்டச்சர் 60 வார்த்தைகளை ஒரு நிமிடத்திற்கு தட்டச்சு செய்வதாகவும், அவர் ஒரு நாளைக்கு 8 மணிநேரம் தட்டச்சு செய்வதாகவும் கொண்டால், முழு மனித ஜீனோமை தட்டச்சு செய்ய 50 வருடங்கள் ஆகும்.
4. ஒரு மனிதன் ஒரு நொடிக்கு ஒரு பேஸ் இணையை உச்சரிப்பதாய் கொண்டால் அவர் தொடர்ந்து 24 மணி நேரமும் உச்சரித்து முடிக்க 100 வருடங்கள் ஆகும்.
5. உருவாக்கப்படும் பெரும் தகவல்களை சேமிக்கவும், அதிலிருந்து தகவல்களை மீண்டும் பெறவும் அதிவேகமான கமப்யூட்டர் ஹார்ட் டிரைவ்களும் பல சூப்பர் கம்ப்யூட்டர்களும் தேவை.

மனித ஜீனோமின் அமைப்பு

மனித ஜீனோம் அமைப்பு படம் 16.22.ல் காட்டப்பட்டுள்ளது 3200Mbயில் சிறு பகுதி (48Mb) மாத்திரமே உண்மையான ஜீன்களைக் குறிக்கின்றன. மீதிப் பகுதி ஜீன் சார்ந்த வரிசைகள்

(இன்ட்ரான், பொய் ஜீன்கள்) மற்றும் DNA இடையேயான (நீண்ட நியூக்ளியார் பகுதிகள், மைக்ரோ சாட்டிலைட்டுகள், DNA டிரான்ஸ்போஸான்கள் போன்றவை) பகுதிகளாகும். DNAகட்கு இடைப்பட்ட பகுதி என்பது ஜீன்கட்கு இடையே காணப்படும் தெரிந்த பணிகள் கொண்டிராத பகுதிகளாகும். இவை கிட்டத்தட்ட 'குப்பை DNA' (junk DNA) ஆகும்.



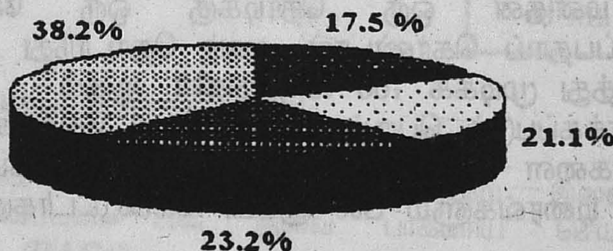
படம் 16.23. ஒரு சராசரி மனித ஜீனின் பொது அமைப்பு

மனித ஜீனோமிலுள்ள ஜீன்கள்

இரு HGP திட்ட முடிவின்படி 30,000 - 40,000 ஜீன்கள் மனிதனில் உள்ளன. ஒரு சராசரி மனித ஜீனின் அமைப்பு படம் 16.23.ல் தரப்பட்டுள்ளது. மனித ஜீன்களின் பட்டியல் வருமாறு:

செல்களின் உயிரியல் பணிகள்:	17.5% ஜீன்கள்
செய்தி கடத்தல்:	21.1% ஜீன்கள
ஜீனோம் பராமரிப்பு,இரட்டித்தல் வெளிப்பாடு:	23.2% ஜீன்கள்
மற்ற பணிகள்:	38.2% ஜீன்கள்

இதில் பணி தெரியாத 13000 ஜீன்கள் சேர்க்கப்படவில்லை.



உயிரியல் பணிகள்	செய்தி கடத்தல்
ஜீனோம் பராமரிப்பு	மற்ற பணிகள்

வரிசைப்படுத்தப்பட்ட மற்ற ஜீனோம்கள்

மனிதன் ஜீனோம் தவிர, பாக்டீரியோபேஜ் Qx174, ஈஸ்ட், சில பாக்டீரியாக்கள், நெல், சுண்டெலி ஆகியவற்றின் ஜீனோம்களும் பல தாவர ஜீனோம்களும் வரிசைப்படுத்தப்பட்டுள்ளன.

மனித ஜீனோமை வரைபடமாக்கல்

HGPயின் முக்கிய திட்டமான மனித குரோமோசோம் வரைபடத் தயாரிப்பில், செல் மரபியற் வரைபடம், ஜீன் பிணைப்பு வரைபடம், ரெஸ்ட்ரிகஷன் ஃபராக்மண்ட் வரைபடம் மற்றும் இயற்பிய வரைபடம் ஆகியவை பயன்படுத்தப்பட்டன.

பயன்பாடுகள்

1. மனிதர்கட்கு இடையே காணப்படும் DNA வேறுபாடுகள் பற்றிய அறிவு, மனிதனைத் தாக்கும் பல நோய்களைக் கண்டறியவும், குணப்படுத்தவும், வராமல் தடுக்கவும் உதவும்.
2. மனித உயிரியல் பற்றி அறிய தடயங்களைத் தருகிறது.
3. "மிரியட் ஜெனிடிக்ஸ்" போன்ற நிறுவனங்கள் மார்பக புற்றுநோய், சிஸ்டிக் பைப்ரோசிஸ் மற்றும் கல்லீரல் நோய்கள் போன்ற நோய்களுக்கான, நோய்வருமுன் தடுக்கும் மரபியல் சோதனைகளை செய்வதாக அறிவித்துள்ளன.
4. பலவித புற்றுநோய்கள், அல்சீமியர் நோய்களுக்கான காரணங்களை அறிந்து கொள்ள உதவுவதன் மூலம் சிகிச்சை முறைகளையும் மேம்படுத்தலாம்.
5. ஆராய்ச்சியாளர், இன்டர்நெட்டில் ஜீன் வரிசையை ஆராய்ந்து, குறிப்பிட்ட நோய்க்கான ஜீனைப்பற்றிய மற்றவர்கள் கருத்தையும் அறிந்துகொண்டு அதற்கான மருத்துவ சிகிட்சைகளை உருவாக்கலாம்.
6. வெவ்வேறு உயிரினங்கட்கு இடையேயான DNA வரிசை ஒற்றுமைகள் பரிணாம ஆய்வில் புதிய பரிமாணங்களை திறந்துள்ளன.
7. பல்வேறு மனித இனங்கட்கு (races) இடையே உள்ள ஜீன் ஆராய்ச்சியும் மனித இன தோற்ற ஆய்வு படிப்பு முறைகளும் புதிய பொலிவு பெற்றுள்ளன.

ஒழுக்கவியல், சட்டம் மற்றும் சமூகப்பிரச்சனைகள்
(Ethical, legal & social issues)

இத்திட்டத்தால் கிடைக்கும் தகவல்கள் தனிமனிதனின் தனிப்பட்ட வாழ்க்கையைப் பாதிக்கலாம். உதாரணமாக ஒரு மனிதனுக்கு ஒரு குறிப்பிட்ட குணப்படுத்த இயலாத நோய் இருந்தால் அவனை சமுதாயம் எப்படிப் பார்க்கும்? இன்சூரன்ஸ் கம்பெனிகள் காப்பீடு

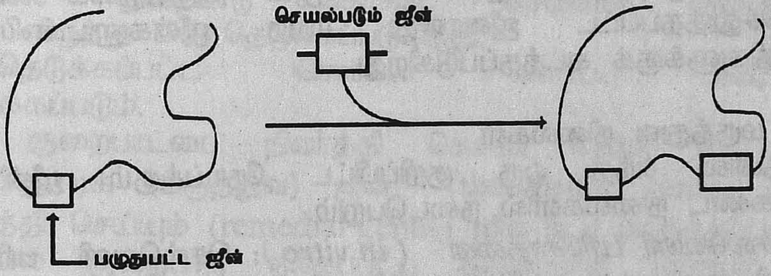
செய்வார்களா? குறைபாடுள்ள ஜீனோம் கொண்ட மனிதர்கள் சமுதாயத்திலிருந்து ஒதுக்கப்படும் வாய்ப்பும் உள்ளது. நல்ல ஜீனோம் வரிசை கொண்டவர்கள், கெட்ட ஜீனோம் வரிசை கொண்டவர்கள் என்ற இரு புது இனங்களே உருவாகும் வாய்ப்பும் உள்ளன. இவையெல்லாம் கருத்தில் கொண்டு இத்தகவல்களுக்கு விளக்கம் கண்டுபிடிக்க HGPயில் 3% நிதி ஒதுக்கீடு செய்யப்பட்டுள்ளது. 1990களில் மனித ஜீனோமை காப்புரிமை கொண்டாட முடிவு செய்யப்பட்டது. கடும் எதிர்ப்பால் அத்திட்டம் கைவிடப்பட்டது. இருப்பினும் இன்றும் வர்த்தக ரீதியாக HGP தகவல்கள் பயன்படுத்தப்படலாம் என்ற அச்சம் உள்ளது.

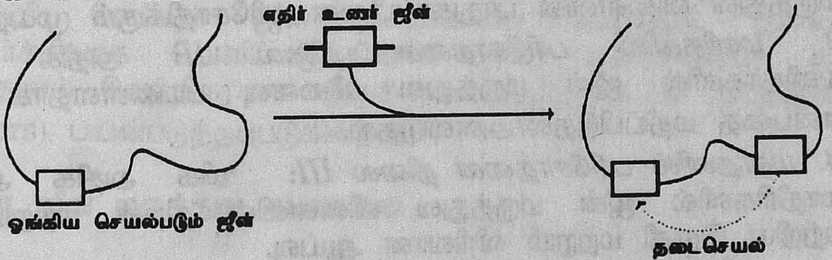
17.ஜீன் மருத்துவம்
(Gene Therapy)



செல்களுக்குள் ஜீன்களைப் புகுத்தி மரபியல் நோய்களைக் குணப்படுத்தும் முறைக்கு ஜீன் மருத்துவம் என்று பெயர். புதிதாக உட்செலுத்தப்பட்ட அந்த ஜீன்களின் குறியீட்டால் உற்பத்தியாகும் புரதங்கள், மரபியல் நோய்களினால் ஏற்படும் குறைபாடுகளை நிவர்த்தி செய்து உயிரிகளையும் மனிதனையும் ஆரோக்கியமாக வைத்திருக்கிறது.

ஜீன் மருத்துவத்தின் நிலைகளாக ஜீன் சேர்க்கை மருத்துவம் (Gene augmentation therapy) (*இழந்த ஜீன் பொருளை திரும்ப பெறுவதற்கு ஜீனோமில் DNAவை நுழைத்தல்)* மற்றும் ஜீன் தடைசெய் மருத்துவம் (Gene inhibition therapy) (படம் 17.1.) *(எதிர் உணர்வு ஜீன், ஓங்கு ஜீனின் வெளிப்பாட்டை தடைசெய்வது)* ஆகியவை கருதப்படுகிறது.





படம் 17.1. ஜீன் மருத்துவ வகைகள்

ஜீன் மருத்துவ அணுகு முறைகள் (strategies): இருவித அணுகு முறைகள் உள்ளன.

I. உடல் செல் ஜீன் மருத்துவம்

ஒரு உயிரியின் விந்து அல்லது முட்டை ஆகிய இனச்செல்களைத் தவிர மற்ற செல்கள் உடல் செல்கள் என அழைக்கப்படுகின்றன. (உ.ம்.) எலும்பு மஜ்ஜை செல்கள், இரத்த செல்கள், தோல் செல்கள், நரம்பு செல்கள், குடல்செல்கள் போன்றவை. முற்றிலும் செயல் புரிந்து தன்னை வெளிப்படுத்தும் ஜீனை குறிப்பிட்ட இலக்கு உடற்செல்லுக்குள் புகுத்தி மரபு நோயை நிரந்தரமாக குணப்படுத்துவதே உடற்செல் ஜீன் மருத்துவம் ஆகும்.

II. இனச்செல் ஜீன் மருத்துவம்

ஒரு உயிரியின் விந்து அல்லது முட்டை செல்களே இனச்செல்கள் ஆகும். DNAவை இனச்செல்களில் புகுத்தி மரபுநோயை குணப்படுத்துவதற்கு இனச்செல் ஜீன் மருத்துவம் என்று பெயர். உட்செலுத்தப்பட்ட ஜீனானது மற்ற ஜீன்களுடன் அடுத்தடுத்த சந்ததிகளுக்குக் கடத்தப்படுகிறது.

ஜீன் மருத்துவ நிலைகள்

மனிதனில் எந்த ஒரு குறிப்பிட்ட நோய்க்கும் ஜீன் மருத்துவம் கீழ்க்கண்ட நிலைகளில் நடைபெறும்.

1. செல்வெளி பரிசோதனை (in vitro): செல்வெளி பரிசோதனைகள் மற்றும் ஆய்வுக்கூட விலங்குகளில் சோதனை.

2. மனிதனில் பரிசோதனை நிலை I: இது 5-10 மனிதர்களில் ஜீன் மருத்துவ விளைவின் பாதுகாப்பினை பரிசோதிக்கும் முயற்சி.

3. மனிதனில் பரிசோதனை நிலை II: அதிக எண்ணிக்கை மனிதர்களில் ஜீன் மருத்துவ விளைவு பயனள்ளதாக இருக்கிறதா என்பதை மதிப்பிடுதல்/அளவிடுதல்.

4. மனிதனில் பரிசோதனை நிலை III: மிக அதிக அளவு மனித மாதிரிகளில் ஜீன் மருத்துவ விளைவின் திறன் மற்றும் பாதுகாப்பு பற்றிய இறுதி மற்றும் விரிவான ஆய்வு.

ஜீன் மருத்துவத்தில் அதிக ஆபத்து நேரிட வாய்ப்பு உள்ளது. ஜீன் மருத்துவம் தொடர்பான எந்த ஒரு ஆராய்ச்சியும் தொடங்குவதற்கு முன் அதற்கென உள்ள கட்டுப்பாட்டு நிறுவனங்களின் அனுமதி பெற வேண்டும். (எ.கா.) அமெரிக்க ஆரோக்கிய தேசிய நிறுவனத்தின் கண்காணிப்பு நிறுவனமான மறு

இணைவு DNA ஆலோசனை சபை (Recombinant Advisory Committee)

ஜீன் மருத்துவத்தின் வகைகள்

ஜீன் மருத்துவம் இருவகைப்படும்

1. உயிரிகட்கு வெளியே (எக்ஸ்-விவோ) ஜீன் மருத்துவம் (*Ex vivo* gene therapy): இவ்வகை மருத்துவத்தில் ஜீன்களை வளர்ப்பு செல்களில் புகுத்தி (எ.கா. எலும்பு மஜ்ஜை செல்கள்) பின்பு அச்செல்கள் மறுபடியும் நோயாளிக்குள் செலுத்தப்படும்.

2. உயிரிகட்கு உள்ளே (இன்-விவோ) ஜீன் மருத்துவம் (*In vivo* gene therapy): குறிப்பிட்ட திசுவின் செல்களுக்குள் ஜீன்கள் நேரடியாக செலுத்தப்படும் முறைதான் இன்வைவோ ஜீன் மருத்துவம்.

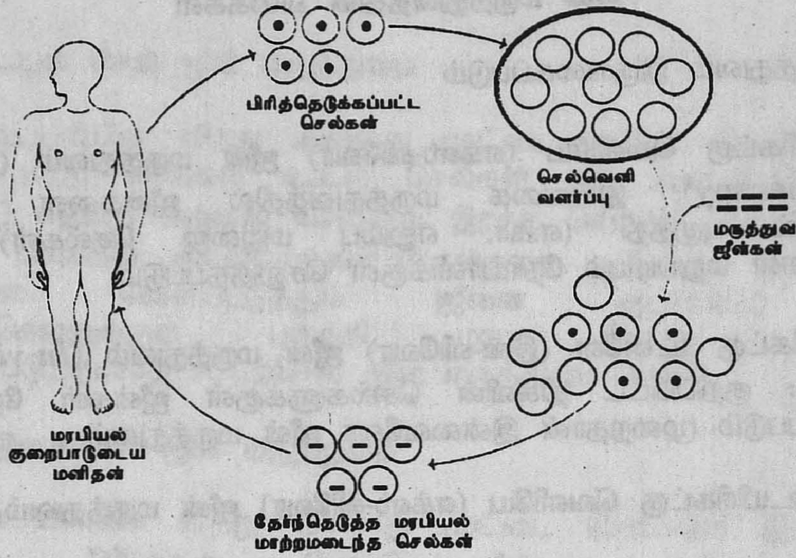
உயிரிகட்கு வெளியே (எக்ஸ்-விவோ) ஜீன் மருத்துவம்

இவ்வகை மருத்துவம் கீழ்க்கண்டவாறு செய்யப்படுகிறது (படம் 17.2.).

1. மரபியல் குறைபாடு கொண்ட செல்கள் நோயாளியின் உடலிலிருந்து பிரித்தெடுக்கப்படுகிறது.
2. பிரித்தெடுக்கப்பட்ட செல்கள் வளர்ப்பு ஊடகத்தில் வளர்க்கப்படும்.
3. ஜீன் குறைபாட்டை நிவர்த்தி செய்ய, தேர்வு செய்யப்பட்ட தெரபியூட்டிக் (மருத்துவ) ஜீன் (therapeutic genes) அல்லது நிவர்த்தி செய்யும் (remedial genes) ஜீன் உட்செலுத்தப்படும்.
4. மரபியல் குறைபாடு நீக்கப்பட்ட நிலையான மாறுபாடடைந்த செல்கள் தேர்ந்தெடுக்கப்பட்டு வளர்க்கப்படும்.
5. மாறுபாடடைந்த செல்கள் நோயாளிக்குள் செலுத்தப்படும். நிவர்த்தி செய்யும் ஜீன் நிலையாகப் பொருந்தி, தன்னை தொடர்ச்சியாக வெளிப்படுத்தினால் தான் எக்ஸ்-விவோ ஜீன் மருத்துவம் வெற்றிகரமாக இருக்கும். இதற்கு உயிர் கடத்திகள் (vectors) பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

எக்ஸ்-விவோ ஜீன் மருத்துவ வகைகள்

1. மேம்படுத்தல் ஜீன் மருத்துவம் (Enhancement gene therapy): விலங்குகளில் ஒரு குறிப்பிட்ட பண்பினை அதிகரிக்கச் செய்வதற்கு மேம்படுத்தல் ஜீன் மருத்துவம் பயன்படுத்தப்படுகிறது. (உ.ம்.) உயரத்தை அதிகரிக்க, வளர்ச்சியைத் தூண்டும் ஹார்மோனின் ஜீன் உட்செலுத்தப்படுகிறது.



படம் 17.2. எக்ஸ்– விவோ ஜீன் மருத்துவ முறை

2. யூஜெனிக் ஜீன் மருத்துவம் (Eugenic gene therapy): அறிவுத்திறன் மற்றும் ஒரு தனிமனிதனின் தனித்தன்மை (personality) போன்ற பண்புகளை அதிகரிக்கவோ அல்லது மாற்றி அமைக்கவோ அதற்கான புதுமையான ஜீன்கள் புகுத்தப்படுகின்றன. இவ்வகை மருத்துவம் ஆய்வு நிலையில் உள்ளது. மனிதனில் இன்னும் செயல்படுத்தப்படவில்லை.

3. கருப்பை உள் ஜீன் மருத்துவம் (Intra uterine gene therapy): இவ்வகை மருத்துவத்தின் மூலம் வளர்கருவிற்குள் ஜீன்களை புகுத்தி மரபியல் நோய்களை குணப்படுத்தமுடியும். (எ.கா.) டேசாக்ஸ் நோய் லீஷ்ச்-நிஹான் சிண்ட்ரோம் போன்ற நோய்களுக்கு குழந்தை பிறப்பதற்கு முன்பே, அதாவது குழந்தை கருப்பைக்குள் இருக்கும்போதே உரிய ஜீன் மருத்துவ சிகிச்சை அளிக்க வேண்டும்.

ஜீன் செலுத்து முறைகள்:

1. வைரஸ் வெக்டார்கள்: உடற்செல்களுக்குள் ஜீன்களை எடுத்துச் செல்லும் துகள்கள் அல்லது மூலக்கூறுகள் உயிர் கடத்திகள் என்று அழைக்கப்படுகிறது. (எ.கா.) ரெட்ரோவைரஸ், அடினோவைரஸ், அடினோ-தொடர்பு வைரஸ், லென்டிவைரஸ் (HIV, HSV).

2. இயற்பியல் முறைகள்: DNAவை செல்களுக்குள் நேரடியாக உட்செலுத்துதல். இவையாவன: (1) குறைந்த மின் அழுத்த எலெக்ட்ரோபோரேசன் (electroporation) அல்லது நுண் ஊசி முறை (microinjection), (2) பார்ட்டிகிள் பம்பார்ட்மென்ட் (particle bombardment) (பயோலிஸ்டிக்ஸ் அல்லது துகள்கள் துப்பாக்கி) (மைக்ரோ புரொஜெக்டைல்ஸ்), (3) அழுத்தம் மூலம் DNAவை செலுத்துதல். (4) நீர் இயக்க அழுத்தம் மூலம் DNAவை உட்செலுத்தும் முறை (hydrodynamic force), (5) அல்ட்ராசோனிக் நெபுயுலைசேஷன் (ultrasonic nebulisation), (6) ஜீன்-துப்பாக்கி (gene gun).

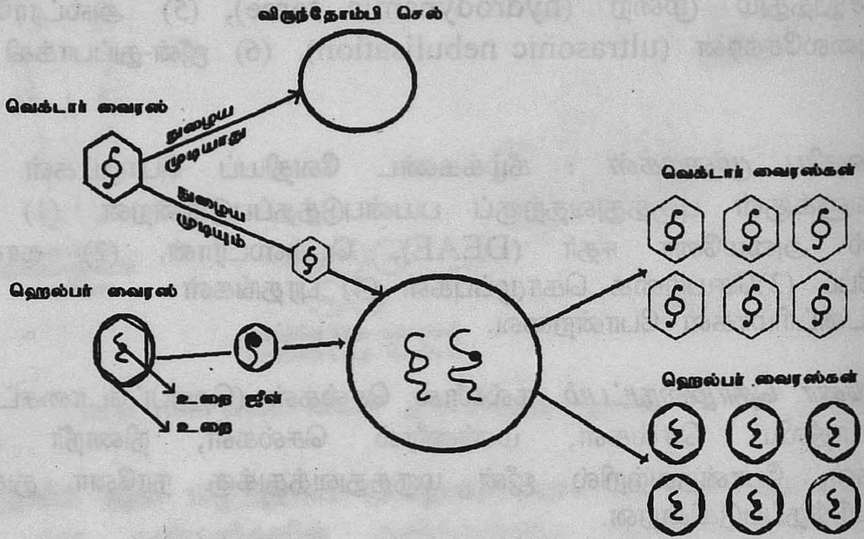
3. வேதிய முறைகள் : கீழ்க்கண்ட வேதியப் பொருட்கள் ஜீனை செல்களுக்குள் புகுத்துவதற்குப் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. (1) 2—டை எத்தில் அமைனோ ஈதர் (DEAE), டெக்ஸ்ட்ரான். (2) கால்சியம் பாஸ்பேட் (3)செயற்கை கொழுப்புகள் (4) புரதங்கள்
(5) டென்ட்ரிமர்கள் போன்றவை.

4. நானோ தொழில்நுட்பம் :கல்லீரல் செல்கள் (ஹெபட்டோசைட்டுகள்), எண்டோதீலிய செல்கள், மண்ணீரல் செல்கள், நிணநீர் முடிச்சு செல்கள், போன்றவற்றில் ஜீன் மருத்துவத்துக்கு நானோ துகள்கள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

ஜீன் மருத்துவத்தில் பல்வேறு காரணிகளின் பங்கு

(i) ரெட்ரோவைரஸ்கள்: ரெட்ரோவைரஸ்களின் மரபுப்பொருள் RNA. ரெட்ரோவைரஸ் விருந்தோம்பி செல்லில் நுழைந்த பின் தலைகீழ் படி எடுத்தல் மூலம் RNAவிலிருந்து DNAவை உற்பத்தி செய்யும். இந்த வைரஸ் DNA (புரோவைரஸ்) விருந்தோம்பி செல்லின் DNAவுடன் இணையும். புரோவைரஸ்களால் பொதுவாக தீங்கு ஏற்படாது. ஆனால் சில ரெட்ரோவைரஸ்கள் சாதாரண செல்களைப் புற்று செல்களாக மாற்றும். ஆகவே ரெட்ரோவைரஸ்களை கடத்திகளாக உபயோகிக்குமுன், சில உயிர் வேதிய முறைகளை பயன்படுத்தி, ஆராய்ச்சியாளர்கள் கீழ்க்கண்டவாறு தீங்கு விளைவிக்கும் ரெட்ரோவைரஸ்களை தீங்கற்றவைகளாக மாற்றி அமைக்கின்றனர். அவ்வைரஸின் உறைக்கு குறியீடு கொடுக்கும் ஜீனை அகற்றி, ரெட்ரோவைரஸ்களை முடமாக்கி தீங்கற்றவைகளாக மாற்றுகின்றனர். உறை இல்லாமல் ரெட்ரோவைரஸ்களால் விருந்தோம்பி செல்லுக்குள் நுழைய முடியாது. இவ்வித வைரஸ் உறை குறைபாடு கொண்ட ஒரு ரெட்ரோவைரசிலிருந்து அதிக அளவு வைரஸ் துகள்களை உண்டு பண்ணமுடியும். உறை உருவாக்கத்திற்குத் தேவையான நல்ல

ஜீனைக் கொண்ட உதவி செய்யும் வைரஸ்கள் (helper virus) (படம் 17.3.) இதற்கு பயன்படுகிறது. உதவி செய்யும் வைரசுடன் குறைபாடுடைய உறை ஜீனைக் கொண்ட உயிர் கடத்தி விருந்தோம்பி செல்லுக்குள் நுழைந்து இருவித வைரஸ்களும் பெருக்கமடையும். வெக்டார் வைரஸ்கள் உதவி செய்யும் வைரஸ்களிடமிருந்து தனிமைப்படுத்தப்பட்டு அதன் பின் தூய்மைப்படுத்தப்படும்.



படம் 17.3. ஹெல்பர் வைரஸ்கள் மூலம் அதிக அளவு வெக்டார் வைரஸ்களை உற்பத்தி செய்தல்

ரெட்ரோவைரசின் ஜீனோம் RNAவினால் ஆனது. அதில் கீழ்க்கண்ட ஆறு பகுதிகள் காணப்படுகிறன. அவையாவன (படம் 17.4.a,b.):

1) 5'- நீண்ட முனை திரும்பதிரும்ப காணப்படும் பகுதி, 5'-LTR, (5'- Long Terminal Repeat)
2) RNAவை வைரஸ் புரத உறைக்குள் பொதித்து வைக்க உதவும் குறியீடு எதுவும் தராத தொடர் வரிசை
3) அமைப்பு புரதத்திற்கு குறியீடு தரும் gag ஜீன்.
4) ரிவர்ஸ் டிரான்ஸ்கிரிப்டேஸ் நொதிக்கு குறியீடு கொடுக்கும் pol ஜீன்.
5) வைரஸ் புரத உறை ஆக்கத்திற்கு குறியீடு கொடுக்கும் இஎன்வி (env) ஜீன்
6) 3'-LTR தொடர்வரிசை.

(a)

5'-LTR	ψ	*gag*	*pol*	*env*	3'-LTR

(b)

5'-LTR	ψ	*x*	*p*	3'-LTR

படம் 17.4.a, 17.4.b ஜீன் தெராபியில் பயன்படுத்தப்படும் ரெட்ரோவைரஸ்

ரெட்ரோவைரசை வெக்டாராக பயன்படுத்தும்முன் env ஜீன் அகற்றப்படுகிறது. மேலும் அமைப்பு ஜீன்களான gag மற்றும் pol உம் நீக்கப்படுகிறது. ரெட்ரோவைரஸ் ஜீனோமுடன் ஒரு புரோமோட்டார் ஜீன் சேர்க்கப்படுகிறது. இவ்வாறு உருவாக்கப்பட்ட ரெட்ரோவைரஸ் வெக்டாரால் அதிகபட்சமாக எட்டு கிலோ பேஸ் (8kb) அளவு ஜீன் மருத்துவத்திற்கு உதவும் DNAவை சுமந்து செல்ல முடியும்.

தற்போது ஆன்கோ-ரெட்ரோவைரஸ், அடினோவைரஸ், அடினோ தொடர்பு வைரஸ், ஹெர்பீஸ் வைரஸ் மற்றும் பல ஹைபிரிட் உயிர் கடத்திகள் ஜீன் மருத்துவத்திற்காக உருவாக்கப்பட்டுள்ளன.

(ii) முரைன் லியூகேமியா வைரஸ்கள் (MLV): முரைன் லியூகேமியா வைரசானது சுண்டெலிகளில் லியூகேமியாவை ஏற்படுத்தும் ஒரு ரெட்ரோவைரஸ். புறப்பரப்பு உணர்வாங்கி புரத ஒற்றுமையின் காரணமாக, இந்த வைரஸ் மனித மற்றும் சுண்டெலியின் செல்களுடன் வினைபுரிய முடிகிறது. ஆகவே முரைன் லியூகேமியா வைரஸ், ஜீன்களை ஓரிடத்தில் இருந்து மற்றொரு இடத்தில் போய் சேர்க்க அதிகமாக உபயோகிக்கப்படுகிறது.

(iii) எய்ட்ஸ் வைரஸ்: மனித எதிர்ப்பு சக்தி குறைபாட்டு வைரசை (Human Immuno Deficiency Virus (HIV)) ஜீன் மருத்துவத்திற்கு உயிர் கடத்தியாக பயன்படுத்த முடியும். ஜீனை ஓரிடத்திலிருந்து மற்றொரு இடத்திற்கு கொண்டுபோய் சேர்க்க உதவும் அத்தியாவசியமான ஜீன்களை தக்க வைத்துக் கொண்டு HIV இனப்பெருக்கத்துடன் தொடர்புள்ள எல்லா ஜீன்களையும் நீக்கிவிட்டு தீங்கற்ற HIVயை ஆராய்ச்சியாளர்கள் உருவாக்கியுள்ளார்கள். MLVயினால் செல் பிரிதல் நடந்து கொண்டிருக்கும் செல்களில் தான் வெக்டராக செயல்பட முடியும். ஆனால் HIV மூளை செல்கள்

போன்ற செல்பிரிதல் நடைபெறாத செல்களில் கூட உயிர் கடத்தியாக செயல்பட முடியும்.

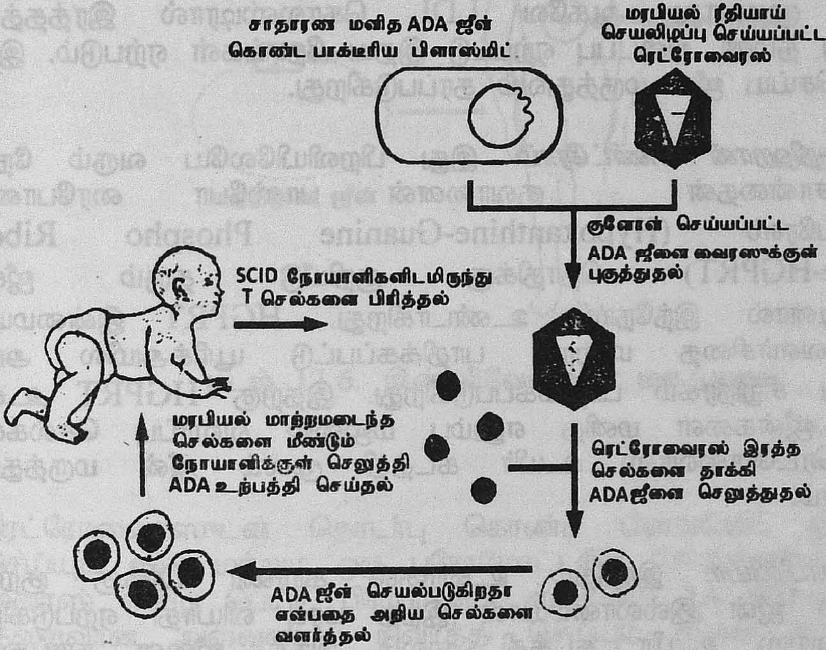
(iv) மனித செயற்கை குரோமோசோம் (Human Artificial Chromosome-HAC): HAC செயற்கையாக உருவாக்கப்பட்ட குரோமோசோமாகும். இது ஒரு மனித புரதத்திற்கு குறியீடு கொடுப்பது மட்டுமின்றி மற்ற குரோமோசோம்களுடன் சேர்ந்து இரட்டிக்கவும் செய்கிறது. ரெட்ரோவைரஸ்களை உயிர் கடத்தியாகப் பயன்படுத்துவதால் மிகுந்த அபாயம் உள்ளது. ஆனால் HACயை உயிர் கடத்தியாக பயன்படுத்துவதில் எவ்வித அபாயமும் இல்லை.

(v) எலும்பு மஜ்ஜை செல்கள்: எலும்பு மஜ்ஜையில் முழுதிறன் கொண்ட கரு தண்டு செல்கள் (embryonic stem cells) காணப்படுகின்றன. இச்செல்கள் பிரிந்து பல்வேறு செல்களை உண்டு பண்ணும் தன்மையது (எ.கா.) இரத்த சிவப்பணுக்கள் (RBC), ப்ளேட்லெட்கள், மேக்ரோபேஜ்கள், ஆஸ்டியோப்ளாஸ்டுகள் (osteoblasts), B மற்றும் T லிம்போசைட்டுகள். இதனால்தான் அநேக மரபு வியாதிகளுக்கு எலும்பு மஜ்ஜை மாற்றி அமைத்தல் முறை பயன்படுத்தப்படுகிறது. (எ.கா.) தீவிர இணைந்த தடைகாப்பு குறைந்த (Severe Combined Immuno Deficiency-SCID) அரிவாள் செல் அனீமியா, :.பான்கோனி அனீமியா, தலாசிமியா, கௌசர் நோய், ஹன்டர் நோய், ஹன்டர் சின்ட்ரோம், நாள்பட்ட கிரானுலோமேட்ஸ் நோய், குழந்தைப்பருவ ஏகிரானுலோசைடாசிஸ், ஆஸ்டியோ போரோசிஸ், X- இணைந்த ஏகாமாகுளோபுலுனீமியா.

எக்ஸ்-விவோ ஜீன் மருத்துவத்திற்கு முக்கிய உதாரணங்கள்

1.அடினோசைன் டீஅமைனேஸ் குறைபாட்டிற்கான மருத்துவம் (Severe Combined Immuno Deficiency - SCID): **X**-SCID என்பது ஒரு மரபியல் நோய். இந்நோயினால் பாதிக்கப்பட்ட நபர்களின் நோய் எதிர்ப்பு மண்டலம் செயல்படாது. ஆகவே அவர்கள் சிறிய அளவில் நோய்க்கிருமிகளால் பாதிக்கப்பட்டால்கூட இறந்து விடுவார்கள். அடினோசைன் டீ அமைனேஸ் நொதி (Adenosine De Aminase-ADA) உற்பத்திக்கு குறியீடு தரும் ஜீனில் குறைபாடு காணப்பட்டால் SCID ஏற்படும். இந்நோயால் தாக்கப்பட்டவர்களின் நோய் எதிர்ப்பு மண்டலத்திலுள்ள T மற்றும் B செல்கள் செயல்படாது. 1990ஆம் ஆண்டு செப்டம்பர் மாதம் 14-ம் தேதி அமெரிக்காவிலுள்ள தேசிய சுகாதார நிறுவனத்தின் (NIH) ப்ளேசி மற்றும் ஆன்டர்சன் (Anderson) குழுவினரால் அசாந்தி (Ashanti) என்ற நான்கு வயது சிறுமிக்கு

முதன்முதலாக SCIDக்காக ஜீன் மருத்துவம் அளிக்கபட்டது (படம் 17.5.).



படம் 17.5. SCID விற்கான ஜீன் மருத்துவம்

சிகிச்சையின் ஆரம்பத்தில் நோயாளியின் உடலிலிருந்து T செல்கள் பிரித்தெடுக்கப்படுகின்றன. அதன்பின் அந்த செல்கள் மனித ADA ஜீன் (இயல்பான நல்ல ஜீன்) கொண்ட மரபியல் மாற்றமடைந்த ரெட்ரோவைரஸ் கொண்ட திரவத்தில் கலக்கப்படுகின்றன. ரெட்ரோ வைரஸ்கள் T செல்களைத் தாக்கி, T செல்களின் ஜீன் தொகுப்பில் நன்கு செலாற்றும் ADA ஜீன்களை புகுத்தி விடுகின்றன. இவ்வாறு மாறுபாடடைந்த T செல்களை ஆய்வுக்கூடத்தில் வளர்த்து, அந்த ஜீன்கள் செயல்புரியும் தன்மையுடன் உள்ளனவா என்று உறுதி செய்த பின்பு, அந்த T செல்கள் அதிக எண்ணிக்கையில் நோயாளியின் இரத்தத்தில் செலுத்தப்படுகின்றன. அதன் பின் அந்த T செல்கள் நோயாளியின் இரத்தத்தில் நிலையாக ADA ஜீனை உற்பத்தி செய்யத் தொடங்கிவிடும். இதன் விளைவாக நோயாளிக்கு ஆண்டிபாடி உற்பத்தி செய்யும் திறன் அதிகரிக்கும். ஆகவே நோய் குணமாகிவிடும்.

2. ஃபெமிலியல் ஹைபர் கொலஸ்டிரோலீமியா: ஃபெமிலியல் ஹைபர் கொலஸ்டிரோலீமிய நோயாளிகளின் கல்லீரல் செல்களில் குறைந்த அடர்வு லிப்போபுரத (LDL) உணர்வாங்கிகள் இல்லை. இதன் விளைவாக LDL கொலஸ்டிரால் வளர்சிதை மாற்றம் கல்லீரலில் நடைபெற முடியாது. ஆகவே LDL கொலஸ்டிரால் இரத்தத்தில் அதிகரித்து தமனி அடைப்பு ஏற்பட்டு இதய நோய்கள் ஏற்படும். இதை நிவர்த்தி செய்ய ஜீன் மருத்துவம் தரப்படுகிறது.

3. லிஸ்ச்-நிஹான் சிண்ட்ரோம்: இது பிறவியிலேயே வரும் நோய். ஹைப்போசான்தைன் - குவானைன் பாஸ்போ ரைபோசைல் டிரான்ஸ்ஃபரேஸ் (Hypoxanthine-Guanine Phospho Ribosyl Tranferase-HGPRT) நொதிக்கு குறியீடு தரும் ஜீனின் குறைபாட்டினால் இந்நோய் உண்டாகிறது. HGPRT இன்மையால் பியூரின் வளர்சிதை மாற்றம் பாதிக்கப்பட்டு யூரிக்அமில அளவு அதிகரித்து சிறுநீரகம் பாதிக்கப்படுகிறது. இதற்கு HGPRT உண்டு பண்ணும் ஜீன்களை மனித எலும்பு மஜ்ஜை வளர்ப்பு செல்களில் புகுத்தி ரெட்ரோவைரஸ் உயிர் கடத்தி மூலம் ஜீன் மருத்துவம் அளிக்கலாம்.

4. ஹீமோபிலியா: இரத்தம் உறைதல் காரணி IXக்கு குறியீடு கொடுக்கும் ஜீன் இல்லாமையால் இந்த மரபு வியாதி ஏற்படுகிறது. ரெட்ரோவைரஸ் உயிர் கடத்தி மூலம் இந்த ஜீனை நாய்களின் கல்லீரல் செல்களுக்குள் புகுத்தும்போது, அந்த நாய்களில் ஹீமோபிலியாவுக்கான அறிகுறி எதுவும் தென்படவில்லை.

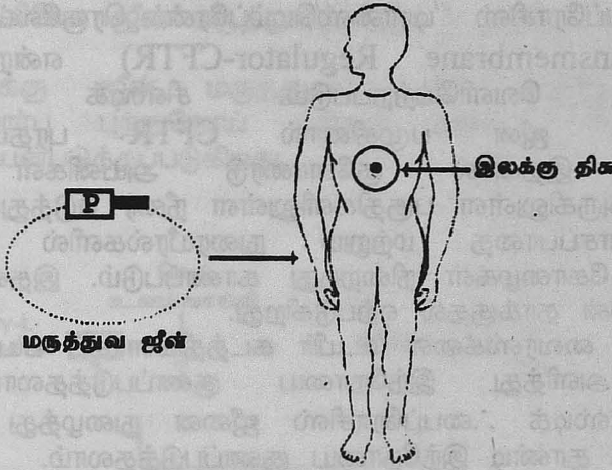
உயிரிகட்கு உள்ளே (இன்-விவோ) ஜீன் மருத்துவம்

நோயாளியின் குறிப்பிட்ட திசுவின் இலக்கு செல்களுக்குள் நிவர்த்தி செய்யும் ஜீனை நேரடியாக செலுத்துவதே இன்-விவோ ஜீன் மருத்துவம் (எ.கா.) கல்லீரல், தசை, தோல், மண்ணீரல், நுரையீரல், மூளை மற்றும் இரத்த செல்கள். ஜீன்கள் வைரஸ் அல்லது வைரஸ் அற்ற உயிர் கடத்தி மூலம் செலுத்தப்படும் (படம் 17.6.).

ஜீன் மாற்று முறைகள்

A. வைரஸ் மூலம் ஜீன் மாற்றம்

(i) ரெட்ரோவைரஸ்: இரட்டித்தல் குறைபாடு கொண்ட தீங்கற்ற ரெட்ரோவைரஸ் உயிர் கடத்திகள் ஜீன்களை கடத்துவதற்கு பயன்படுத்தப்படுகின்றன.



படம் 17.6. இன்-விவோ ஜீன் மருத்துவம்

ரெட்ரோவைரஸுடன் தொடர்பு கொண்ட பிளாஸ்மிட் ஒரு நிவர்த்தி செய்யும் ஜீன் மற்றும் ஒரு புரோமோட்டரின் சேர்க்கைக்கு பிளாஸ்மோ வைரஸ் என்று பெயர். பிளாஸ்மோ வைரசால் 3.4 கிலோ பேஸுக்கும் குறைவான அளவுடைய நிவர்த்தி செய்யும் ஜீனை சுமந்து செல்ல முடியும். பிளாஸ்மோ வைரஸிலிருந்து இரட்டித்தல் குறைபாடு கொண்ட வைரஸ் துகள்களை உண்டு பண்ண முடியும். ரெட்ரோவைரஸ் உயிர் கடத்திகள், ஜீன்களை பயன்படுத்தும்போது இலக்கு செல்கள் பிரிதல் நிலையில் இருக்க வேண்டும்.

(ii) அடினோ தொடர்பு வைரஸ் உயிர் கடத்திகள்: இது ஒரு மனித வைரஸ். குரோமோசோம் 19 உடன் ஒன்று சேரும். இந்த வைரஸ் விருந்தோம்பி செல்லிற்குள் நுழைந்த உடன், அதன் DNA இரட்டித்து 19வது குரோமோசோமுடன் இணைந்து தன்னை வெளிப்படுத்தும். இந்த உயிர் கடத்தி ஹீமோபிலியா மற்றும் சிஸ்டிக் ஃபைப்ரோசிஸ் நோய்களை குணப்படுத்த பயன்படுத்தப்படுகிறது.

(iii) அடினோ வைரஸ் உயிர் கடத்திகள்: இவ்வகை வெக்டார்கள் செல்பிரிதல் நடைபெறாத செல்களுக்கும் ஜீனை எடுத்துச் செல்லும் தன்மை கொண்டது.

சிஸ்டிக் ஃபைப்ரோசிஸ் (Cystic Fibrosis-CF) நோயால் பாதிக்கப்பட்டவர்களின் சுவாசப்பாதை மற்றும் நுரையீரல்களில் ஒட்டும் தன்மை கொண்ட நீரற்ற கோழை அதிகமாகக் காணப்படும். நோயற்ற சாதாரண மனிதர்களின் செல்களிலுள்ள குளோரைடு அயனிகள்,

சிஸ்டிக் ∴பைப்ரோசிஸ் டிரான்ஸ்மெம்ப்ரேன் ரெகுலேட்டார் (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator-CFTR) என்ற புரதத்தின் உதவியினால் வெளியேற்றப்படும். சிஸ்டிக் ∴பைப்ரோசிஸ் நோயாளிகளில் ஜீன் பழுதினால் CFTR புரதம் உற்பத்தி ஆவதில்லை. இதனால் குளோரைடு அயனிகள் செல்களில் அதிகரித்து, அருகிலுள்ள பகுதிகளிலுள்ள நீரை எடுத்துக் கொள்ளும். ஆகவே சுவாசப்பாதை மற்றும் நுரையீரல்களில் நீரற்றுப்போய், வழவழப்பான கோழைகள் நிறைந்து காணப்படும். இதன் விளைவாக பாக்டீரியன்களின் தாக்குதல் ஏற்படுகிறது.

அடினோ வைரஸ்களை உயிர் கடத்திகளாகப் பயன்படுத்தி ஜீன் மருத்துவம் அளித்து இந்நோயை குணப்படுத்தலாம். வளர்கரு செல்களில் சிஸ்டிக் ∴பைப்ரோசிஸ் ஜீனை நுழைத்து CFTR புரத உற்பத்தியைத் தூண்டி இந்நோயை குணப்படுத்தலாம்.

(iv) ஹெர்பஸ் சிம்ப்லெக்ஸ் வைரஸ்: இந்த உயிர் கடத்திகள் நரம்பு மண்டலத்திலுள்ள குறிப்பிட்ட வகை செல்களுக்கு பயன்படுத்தப்படுகிறது. இந்த உயிர் கடத்திகள் கொண்ட ஜீன் மருத்துவம் மூலம் பார்க்கின்சன்ஸ் வியாதி, அல்ஸீமர்ஸ் வியாதி போன்ற நரம்பு சிதைவு சின்ட்ரோம்களை குணப்படுத்தலாம்.

B.வைரஸ் அற்ற ஜீன் மாற்று முறைகள்

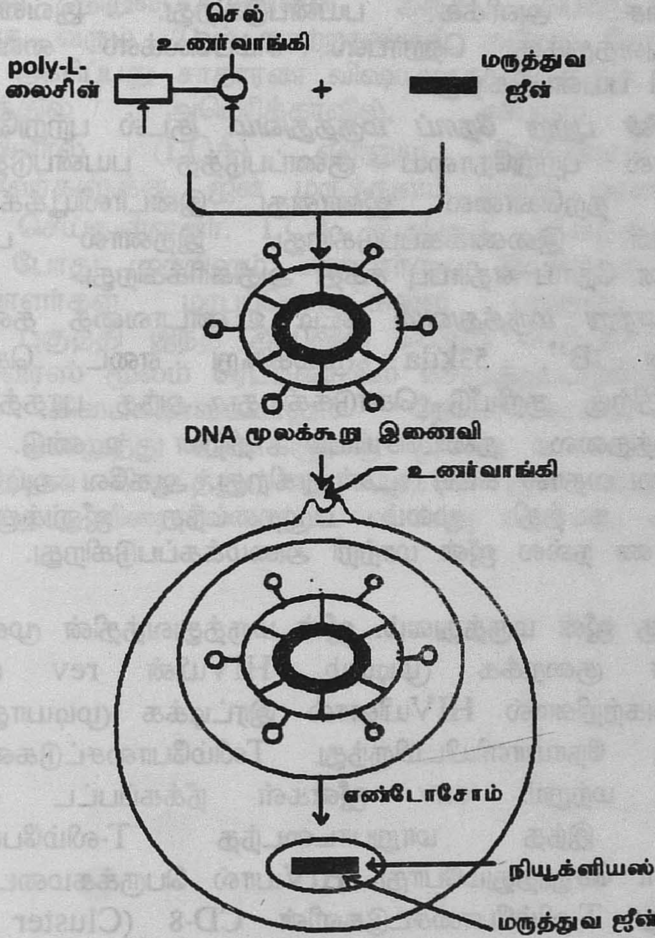
(i) தூய DNA அமைப்புகள் இலக்கு திசுவுக்குள் நேரடியாக DNAவை செலுத்துதல்.

(ii) லிப்போப்லெக்சஸ்: கொழுப்பு DNA தொகுப்பிற்கு லிப்போப்லெக்ஸ் அல்லது லிப்போசோம்கள் என்று பெயர். இதில் DNAவைச் சுற்றி கொழுப்பு அடுக்குகள் காணப்படும்.

(iii) DNA – மூலக்கூறு இணைவிகள்: மிகவும் அதிக அளவு பயன்படுத்தப்படும் செயற்கை இணைவி பாலி-எல்-லைசின் (poly -L-lysin). இது ஒரு குறிப்பிட்ட இலக்குசெல் உணர்வாங்கியுடன் இணையும் (படம் 17.7). இத்துடன் நிவர்த்தி செய்யும் ஜீன் இணைந்து ஒரு தொகுப்பாக ஆகும். இந்த DNA மூலக்கூறு இணைவிகள் இலக்கு செல்களின் மேலுள்ள குறிப்பிட்ட செல் உணர்வாங்கியுடன் பிணைப்பு ஏற்படுத்தும். செல் உறை அதை உள் இழுத்து எண்டோசோம் உண்டாகும். இதனால் DNA சிதைவடைவதில்லை. எண்டோசோமிலிருந்து DNA விடுவிக்கப்பட்டு உட்கருவிற்குள் செல்லும். அங்கே நிவர்த்தி செய்யும ஜீன் தன்னை வெளிப்படுத்தும்.

இன்-விவோ ஜீன் மருத்துவத்திற்கு உதாரணங்கள்

1. புற்றுநோய்க்கு ஜீன் மருத்துவம்: ஜீன் மருத்துவம் தோல் புற்றுநோய், மார்பு புற்றுநோய் மற்றும் மூளை புற்றுநோய்களை குணப்படுத்த பயன்படுத்தப்படுகிறது.



படம் 17.7. மருத்துவ ஜீனை செலுத்த DNA மூலக்கூறு இணைவியின் உபயோகம்

- *புற்றுநோய் அழுகல் காரணி ஜீன் மருத்துவம்: (Tumor Necrosis Factor-TNF):* இது மனிதனில் காணப்படும் மேக்ரோபேஜ்களால் உண்டு பண்ணப்படும் ஒரு புரதம் (TNF). இப்புரதம் புற்றுநோய் ஊடுருவும் லிம்போசைட்டுகள் (TIL) என்ற தனி வகை நோய்

எதிர்ப்பு சக்தி கொண்ட செல்களின் புற்றுநோய்க்கு .பாதுகாப்பு அளிக்கும் சக்தியை அதிகரிக்கும் தன்மை கொண்டது. TIL களில் TNF ஜீனை செலுத்தி மெலனோமா என்ற வகை புற்றுநோய்க்கு சிகிச்சை அளிக்கப் பயன்படுத்தப்படுகிறது.

- ***தற்கொலை ஜீன் மருத்துவம் (suicide gene therapy):*** தைமிடின் கைனேஸ் நொதிக்கு குறியீடு தரும் ஜீன்தான் தற்கொலை ஜீன் என்று அழைக்கப்படுகிறது. இது இவ்வகை புற்றுநோய்களுக்கு சிகிச்சை அளிக்க பயன்படுகிறது. இவ்வகை ஜீன் மருத்துவத்துக்கு ஹெர்பஸ் சிம்ப்லெக்ஸ் வைரஸ் உயிர் கடத்தி பயன்படுகிறது.
- ***இரு ஜீன் புற்று நோய் மருத்துவம்:*** குடல் புற்றுநோய் மற்றும் கல்லீரல் புற்றுநோயை குணப்படுத்த பயன்படுத்தப்படுகிறது. இதில் தற்கொலை ஜீனானது இன்டர்லியூக்கின்-2 (Il-2) ஜீனுடன் இணைக்கப்படுகிறது. இதனால் புற்றுநோய்க்கு எதிரான நோய் எதிர்ப்பு சக்தி அதிகரிக்கிறது.
- ***ஜீன் மாற்று மருத்துவம்:*** கட்டி உண்டாவதை தடை செய்யும் ஜீனான B^{53}, 53kda மூலக்கூறு எடை கொண்ட ஒரு புரதத்திற்கு குறியீடு கொடுக்கிறது. அந்த புரதத்திற்கு DNA இரட்டித்தலை தடைசெய்யும் திறன் உண்டு. B^{53} ஜீன் பழுதடைவதால் கட்டி உண்டாகிறது. ஆகவே அடினோ வைரஸ் உயிர் கடத்தி மூலம் பழுதடைந்த ஜீனுக்குப் பதிலாக சாதாரண நல்ல ஜீன் மாற்றி அமைக்கப்படுகிறது.

2. எய்ட்ஸுக்கு ஜீன் மருத்துவம்: ஜீன் மருத்துவத்தின் மூலம் AIDS-ன் விளைவுகளை குறைக்க முடியும். HIVயின் rev மற்றும் env ஜீன்களை அகற்றினால் HIVயினால் இரட்டிக்க முடியாது. HIVயால் பாதிக்கப்பட்ட நோயாளியிடமிருந்து Tலிம்போசைட்டுகளை எடுத்து அதில் rev மற்றும் env ஜீன்கள் நீக்கப்பட்ட வைரஸ்களை உட்புகுத்தி, இந்த மாறுபாடடைந்த T-லிம்போசைட்டுகளை நோயாளிக்குள் செலுத்தும்போது, HIVயால் பெருக்கமடைய முடியாது. ஆனால், அது T-லிம்போசைட்டுகளின் CD-8 (Cluster Determinant Antigen 8) உற்பத்தியைத் தூண்டும். CD-8 செல்கள் கொல்லும் லிம்போசைட்டுகளாகும். ஆகவே HIVயால் தாக்கப்பட்ட செல்கள் அழிந்து விடும்.

HIV உறையில் gp120 என்ற 120 kda மூலக்கூறு எடை கொண்ட கிளைக்கோபுரதம் காணப்படுகிறது. இப்புரதம் விருந்தோம்பி செல்லுடன் HIVயும் சேர்ந்து இரட்டித்தல் நடைபெற உதவுகிறது. ஆராய்ச்சியாளர்கள் F105 என்ற ஒரு ஜீனை உண்டு பண்ணி gp120யை செயலிழக்கச் செய்யும் ஆண்டிபாடியை உண்டு

பண்ணியுள்ளார்கள். இதனால் HIV துகள்கள் உற்பத்தி மிகவும் குறைகிறது.

எதிர்காலத்தில் ஜீன் மருத்துவம்

கடந்த சில ஆண்டுகளில் ஜீன் மருத்துவத்திற்குத் தேவையானவற்றை உருவாக்க குறைந்தது ஒரு டஜன் உயிரிதொழில்நுட்ப ஆராய்ச்சி நிறுவனங்கள் நிறுவப்பட்டுள்ளன. அந்தப் பொருட்கள் விரைவில் விற்பனைக்கு வரும். 21-ம் நூற்றாண்டில் அநேக நோய்களுக்கு ஜீன் மருத்துவம் அளிப்பது சாதாரண விஷயமாக இருக்கும்.

சமீபத்தில் அமெரிக்காவில், லிபர்ஸ் கன்ஜெனிட்டல் அமரோசிஸினால் (LCA) என்னும் நோயினால் கண்பார்வை குன்றியுள்ளவர்களுக்கு, ஜீன் மருத்துவம் மூலம் ஓரளவு கண்பார்வை கிடைக்கச் செய்துள்ளனர். LCA குழந்தை பருவத்தில் வந்து 30-40 வயதாகும் போது முற்றிலும் கண்பார்வை இல்லாமல் செய்து விடும். ஆராய்ச்சியாளர்கள் மரபுப்பொருட்களை வைரஸ் மூலம் கண் செல்களில் புகுத்தி இந்த ஆய்வில் வெற்றி பெற்றுள்ளனர். தீர்வுதரும் ஜீன்கள் வைரஸ் மூலம் ரெட்டினாவில் செலுத்தப்படுகிறது. கண்பார்வை முற்றிலும் கிடைக்காவிட்டாலும் நோயாளிகளின் ரெட்டினாவின் பாதிப்பைப் பொறுத்து அவர்களுக்கு ஓரளவு உலகத்தை கண்களால் பார்க்கும் திறன் கிடைத்துள்ளது. ஆகவே ஜீன் மருத்துவத்தில் ஒரு புதிய சகாப்தம் விரைவில் ஏற்பட வாய்ப்பு உள்ளது என உறுதிபடக் கூறலாம்.

18. ஜீனோமிக்ஸ் மற்றும் புரோட்டியோமிக்ஸ்
(Genomics and Proteomics)



ஒவ்வொரு உயிரின் தனித்த **ஜீன்** அல்லது ஜீன் குழுவைப்பற்றி அல்லாமல் அந்த உயிரியின் மொத்த ஜீனோம்களைப் பற்றி (அவற்றின் முழு DNA வரிசைகள்) அறிய உதவும் மரபியலின் ஒரு பிரிவிற்கு **ஜீனோமிக்ஸ்** என்று பெயர். அதுபோல **புரோட்டியோமிக்ஸ்** என்பது ஒரு உயிரியின் பல்வேறு வகை செல்களில் காணப்படும் அனைத்து புரதங்களையும் பற்றி படிக்கும் பிரிவு ஆகும்.

கடந்த நூற்றாண்டின் பெரும் பகுதியில் (1900 - 1990) மரபியலில் ஜீன்களைப்பற்றி ஆராய, முன்னோக்கிய மரபியல் முறை பின்பற்றப்பட்டது. அதாவது தோற்ற அமைப்பிலிருந்து ஆய்வு ஜீன்களுக்குச் சென்றது. மரபியல் ஆய்வுகளில் முழு ஜீனோமை விட தனிப்பட்ட ஜீன்களுக்கே முக்கியத்துவம் தரப்பட்டது. இதில் இருந்த பெரிய குறைபாடு, DNA பல்உருதோற்றம் மற்றும் திடீர் மாற்ற அல்லீல்கள் கிடைக்காததால் இம்முறையால் பெரும்பாலான ஜீன்களின் பணிகளை கண்டுபிடிக்கப்பட முடியாது. இம்மாதரி ஆய்வுகள் துவக்கத்தில் மேற்கொள்ளப்பட்டதற்கான காரணம் அச்சமயம் முழு ஜீனோம்களையும் பற்றி அறிய உதவும் தொழில் நுட்பம் இல்லை. ஆனால் 1990-களிலிருந்து மேம்பட்ட தொழில்நுட்பங்கள் மூலம் DNAவின் நியூக்ளியோடைட் வரிசைகள் கண்டறியப்பட்டு, அதன் பணிகளும் கண்டுபிடிக்கப்பட்டன. ஒரு உயிரியின் அனைத்து ஜீன்களையும் DNA/mRNA அளவிலோ அல்லது புரதங்கள் அளவிலோ கண்டறிய முடிந்தது. இவை முறையே ஜீனோமிக்ஸ் மற்றும் புரோட்டியோமிக்ஸ் ஆய்வுகள் எனப்பட்டன. 1995-ல் துவங்கி முக்கிய ஆய்வுகள் DNA வரிசையிலிருந்து தோற்ற அமைப்பை நோக்கி நகர்ந்தது. இது பின்னோக்கிய மரபியல் எனப்படும். முழு ஜீனோமையும், புரோட்டியோமையும் கண்டறிய உதவும் தொழில்நுட்பங்களை இவ்வத்தியாயத்தில் பார்க்கலாம்.

ஜீனோமிக்ஸ் (Genomics)

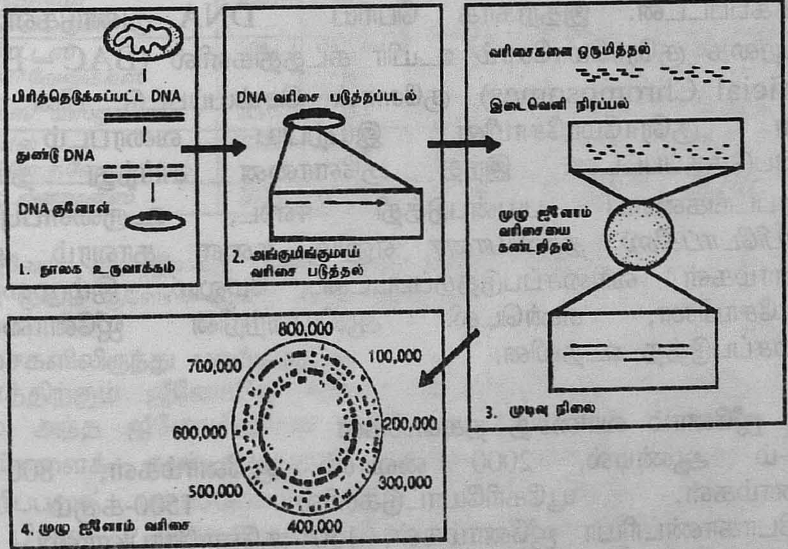
ஸேங்கர் முதன் முதலில் ஒரு வைரஸ் மற்றும் மைட்டோகாண்ட்ரியாவின் முழு ஜீனோமை வரிசைப்படுத்தியபோது ஜீனோமிக்ஸ் துவங்கியது. டாம் ராட்ரிக் **ஜீனோமிக்ஸ்** என்ற வார்த்தையை 1986ல் உருவாக்கினார் எனக் கருதப்படுகிறது. மனிதன் மற்றும் உயர் விலங்குகளில், மரபியல் தகவல்கள் நியூக்ளியஸ் DNA மூலக்கூறுகளிலோ, மைட்டோகாண்ட்ரியா DNAவிலோ (mtDNA) குறியிடப்பட்டு காணப்படுகின்றன. பச்சைத் தாவரங்களில் DNA

நியூக்ளியஸிலும், குளோரோ பிளாஸ்டுகளிலும் (cpDNA) காணப்படும். பல்வேறு புரோகேரியோட்டுகளிலும் சில யூகேரியோட்டுகளிலும் முழு நியூக்ளியோடைட் வரிசைகள் கண்டுபிடிக்கப்பட்டு வரிசைப் படுத்தப்பட்டுள்ளன. பல யூகேரியோட்டுகளின் நியூக்ளியஸ் ஜீனோம்கள் முக்கியமான பல ஜீன்களை அடையாளம் காணவும், கண்டுபிடிக்கவும், பிரித்தெடுக்கவும் உதவும். மேலும் விலங்கு, தாவர மற்றும் நுண்ணுயிர் உயிரிய தொழில்நுட்ப ஆய்வுகட்கு இந்த தகவல்கள் பயன்படும்.

முழு ஜீனோமை வரிசைப்படுத்தும் முறைகள்

ஸேங்கர் உருவாக்கிய டை-டிஆக்ஸி நியூக்ளியோடைட் ட்ரைபாஸ்பேட் முறைக்குப் பின் பல வரிசைப்படுத்தும் முறைகள் உருவாக்கப்பட்டன. தானியங்கி வரிசைப்படுத்தும் முறைகள் பயன்படுத்தப்பட்டு, வேகமாக ஜீன்கள் வரிசைப்படுத்தப்பட்டன. பின்பு உருவான தானியங்கி முறைகளில் DNA துண்டுகளைப் பிரிக்க பாலி அக்ரிலமைட் ஜெல்லுக்குப்பதில் நுண்குழாய் (capillary) பிரித்தல் முறை பயன்படுத்தப்பட்டது. இவை ஒரே சமயம் 384 வரிசைகளை வரிசைப்படுத்தும் நவீன முறைகளாகும். 2005-2008 ஆண்டுகளில் உருவாக்கப்பட்ட புதிய தலைமுறை DNA வரிசைப்படுத்தும் இயந்திரங்கள் மிக வேகமாகவும் குறைந்த செலவிலும் ஜீன்களை வரிசைப்படுத்துகின்றன.

முழு ஜீனோம் குறி இலக்கு வரிசைப்படுத்தல் (WGS-Whole Genome Sequencing)



படம் 18.1. ஹீமோபிலஸ் இன்புளுயன்ஸே பாக்டீரியத்தின் முழு ஜீனோம் வரிசைப்படுத்தல்

இம்முறையில் ஜீனோம் DNA செரிக்கப்பட்டு, குளோன் செய்யப்பட்டு, ஒரு ஜீனோம் நூலகம் உருவாக்கப்படுகிறது. இதையடுத்து குளோன் செய்யப்பட்ட DNA துண்டுகள் வரிசைப்படுத்தப்பட்டு, ஒன்றாக இணைக்கப்படுகின்றன. இம்முறையில் வரிசைப்படுத்த, ஜீனோமில் மரபியல் அல்லது இயற்பியல் வரைபடங்கள் தேவையில்லை. இம்முறையை செலிரா ஜீனோமிக்ஸ் நிறுவனத்திற்காக கிரேக் வெண்டர் பயன்படுத்தினார். இம்முறையைப் பயன்படுத்தி ஹீமோபிலிஸ் இன்புளுயன்ஸா என்ற பாக்டீரியத்தின் ஜீனோம் வரிசைப்படுத்தப்பட்டது (படம்18.1.). இதுதான் முதன்முதலில் வரிசைப்படுத்தப்பட்ட ஜீனோமாகும். பின், 1990களில் WGS முறைமூலம் ஏராளமான நுண்ணுயிரிகளின் ஜீனோம்கள் வரிசைப்படுத்தப்பட்டன.

படிப்படியான குறி இலக்கு வரிசைப்படுத்தல் (Heirarchial shot gun sequencing)

இம்முறை 'முதலில் வரைபடம் பின்னர் வரிசைப்படுத்தல்' அல்லது 'குளோன் மூலம் குளோன் முறை" (CBC–Clone by Clone) என்றும் அழைக்கப்படும். 1980-களில் மனித ஜீனோமை வரிசைப்படுத்த முடிவு செய்யப்பட்டபோது ஜீனோம் DNA பெரிய துண்டுகளாக சிதைக்கப்பட்டு, பின்னர் அவை குரோமோசோம்கள் மீது ஒரு நீள் வரிசையில் ஒன்றன் மேல் ஒன்று ஏறிய பகுதிகளாக அமைக்கப்பட்டன. பின் அவை வரிசைப்படுத்துவதற்கான நிலக்குறியீடுகளாக (land marks) பயன்படுத்தப்பட்டன. முழு குரோமோசோமின் DNA வரிசையைக் கண்டுபிடிக்க, இந்த அடுத்தடுத்த குளோன் பகுதிகள் வசதியாய் ஒன்று சேர்க்கப்பட்டன. இதற்காக பெரிய DNA துண்டுகள், பாக்டீரியா செயற்கை குரோமோசோம் உயிர் கடத்திகளில் (BAC – Bacterial Artificial Chromosomes) குளோன் செய்யப்பட்டு, பின் இந்த BAC-க்கள் குரோமோசோமின் இயற்பிய வரைபடம் தயாரிக்கப் பயன்படுத்தப்பட்டன. இந்த குளோனை சார்ந்து தயாரிக்கப்பட்ட வரைபடங்களைப் பயன்படுத்தி ஈஸ்ட், உருளைப்புழு, நெல், *அராபிடோப்சிஸ் தாலியானா* எனும் களை தாவரம் ஆகியவற்றின் ஜீனோம்கள் வரிசைப்படுத்தப்பட்டன. மேலும், இம்முறை மனிதன், டுரோசோபிலா, சுண்டெலி ஆகியவற்றின் ஜீனோமை ஓரளவு வரிசைப்படுத்த உதவின.

முழு ஜீனோம் வரிசைத் தகவல்கள்

2008-ம் ஆண்டில், 2000 வைரஸ் ஜீனோம்கள், 800 பாக்டீரியா ஜீனோம்கள், யூகேரியோட்டுகளில் 1500-க்கும் மேற்பட்ட மைடோகாண்ட்ரியா ஜீனோம்கள், 150 குளோரோபிளாஸ்ட் ஜீனோம்கள், 12-க்கும் மேற்பட்ட நியூக்ளியஸின் முழுமையான ஜீனோம்கள் வரிசைப்படுத்தப்பட்டன. யூகேரியோட்டுகளில் மனிதன், ஈஸ்ட்,

உருளைப்புழு, டுரோசோபிலா, ஈ, சுண்டெலி, எலி, நெல், திராட்சை, பப்பாளி போன்றவைகளின் ஜீனோம்கள் வரிசைப்படுத்தப்பட்டுள்ளன.

விலங்கு மற்றும் தாவர ஜீனோம் வரிசைகள்

பல செல் விலங்குகளில் 2008-ம் ஆண்டு வரை நடந்த முழு ஜீனோம் வரிசைப்படுத்தலின் சுருக்கம் அட்டவணை 18.1.ல் தரப்பட்டுள்ளன. மனிதன், சுண்டெலி, எலி ஆகியவற்றில் ஜீனோம் அடர்வு கிட்டத்தட்ட ஒன்றாக உள்ளது. ஜீனோமின் அடர்வு அதிகரிக்க அதிகரிக்க ஜீன்களின் அடர்வு குறைவது புலப்படுகிறது. *அராபிடாப்சிஸ் தாலியானா* எனும் ஒரு களை தாவரத்தின் ஜீனோம்தான் முதலில் வகைப்படுத்தப்பட்டது. நெல் ஜீனோமின் 11-வது குரோமோசோமை வரிசைப்படுத்தலில் இந்திய ஆராய்ச்சி மையங்கள் பெரும் பங்காற்றியுள்ளன.

அட்டவணை 18.1. சில மெடாசோவா விலங்குகளின் ஜீனோம்கள்

பெயர்	விலங்கியல் பெயர்	வருடம்	முறை	குரோமோசோம்களின் எண்ணிக்கை	ஜீனோம் அளவு (Mb)	ஜீன்கள் எண்ணிக்கை
உருளைப்புழு	*சி.எலிகன்ஸ்*	1998	WGS	6	97	190,099
பழ ஈ	*டு.மெலனோகாஸ்டர்*	2000	WGS / CBC	4	180	20,763
மனிதன்	*ஹோர்மோ செபியன்ஸ்*	2003	CBC	23	3038	32,854
எலி	*ரேட்டஸ் நார்வேஜிக்கஸ்*	2004	WGS /CBC	21	2750	28,589
சுண்டெலி	*மஸ் மஸ்குலஸ்*	2005	WGS	20	3300	48,063
சிம்பான்ஸி	*பான் ட்ரோகுளோடைட்ஸ்*	2005	WGS	24	3100	31,555
ப்ளாடிபஸ்	*ஓ.அனாடினஸ்*	2008	WGS	26	437	18,596

WGS = முழு ஜீனோம் குறி இலக்கு வரிசை முறை வரிசைப்படுத்தல்
CBC = குளோன் மூலம் குளோன் முறை வரிசைப்படுத்தல்

ஜீனோம் வரிசைகளிலிருந்து பணிகளுக்கு

எந்த உயிரினத்திற்கும் ஜீனோமின் வரிசை கண்டுபிடிக்கப் பட்டதுமே அடுத்த நிலை அந்த ஜீனோமிலுள்ள பல்வேறு பகுதிகளின் பொருள் அல்லது பணிகளைக் கண்டறிவதுதான். இதற்கு 'விளக்க உரை' அல்லது 'குறிப்புரை' (annotation) என்று பெயர். இதன் மூலம் ஜீனோமுக்குப் பிந்தைய அல்லது பணி ஜீனோமிக் ஆய்வுகளுக்கு வழி ஏற்படுகிறது. இதை பல்வேறு வழிகளில் செய்யலாம். எளிய வழி, 'திறந்த வாசிக்கும் கட்டமைப்பு'களை (Open Reading Frames - ORFs)

கண்டறிவதுதான். இதை துவக்க மற்றும் இறுதி கோடான்களை அடையாளம் காண்பதன் மூலம் கண்டறியலாம்.

ஆய்வுகளில் மிகவும் சிரமமானது ஒரு உயிரியின் அனைத்து தனித்தனி ஜீன்களின் பணிகளை அடையாளம் கண்டு அவற்றை ஒருங்கிணைப்பதுதான். இந்த ஆய்வு முறைகட்கு ஒருமித்த உயிரியல் (integrative biology) என்று பெயர். இதற்கு பல துறைகளின் ஆய்வுகள் ஒன்றுபடுத்தப்பட வேண்டும்.

ஜீனோம் வரிசைகளின் குறிப்புரைக்கான முறைகள்
(Methods for annotation of genome sequences)

ஒரு உயிரியின் முழு ஜீனோம் வரிசைகளின் குறிப்புரைக்காக பல முறைகள் உள்ளன. பெரும்பாலான முறைகள் கணினிகளை பெருமளவில் பயன்படுத்தி, ஒரு புதிய ஆராய்ச்சிப்பிரிவான உயிரிய தகவல்களை (பயோஇன்பர்மேடிக்ஸ்) உருவாக்கியுள்ளது. உதாரணமாக, ஜீனைத்தேடும் (gene finders) பல மென்பொருட்கள் பயன்படுத்தப்பட்டு, ORF-கள் அடையாளம் காணப்படுகின்றன. இவைகளே நாம் தேடும் ஜீன்களாக இருக்கலாம்.

1. வரிசையைத் தேடுதல் மூலம் குறிப்புரை
கணினிகளில் இருக்கும் டேட்டாபேஸ்களில் உள்ள பணிகள் அறியப்பட்ட வரிசைகளை நாம் தேடும் ஜீன்களின் வரிசைகளோடு ஒப்பிட்டு பணிகளை அறியலாம். உதாரணமாக *அராபிடாப்ஸின்* 69% ஜீன்களின் பணிகள் இம்மாதிரியான வரிசைகள் ஒப்பீட்டால் கண்டுபிடிக்கப்பட்டுள்ளன. இருப்பினும் இம்முறையால் அனைத்து ஜீன்களின் பணிகளையும் கண்டறிய முடியாது.

2. 'திடீர் மாற்றம் மூலம் பணி இழப்பு' முறை: ஜீனோம் அளவில் செயற்கையாக திடீர் மாற்றங்களை ஏற்படுத்தி, எவ்விதமான பணிகள் செயலிழந்து விடுகின்றன எனக் கண்டறியலாம். இந்த திடீர் மாற்றங்களை, ஜீன்களைப் பிரிக்கவும் அதன் ஜீன் வரிசைகளின் பணிகளை அறியவும் பயன்படுத்தலாம். இம்முறை மூலம் பல புதிய ஜீன்களும் அவற்றின் பணிகளும் கண்டறியப்பட்டுள்ளன. பணி இழப்பு திடீர் மாற்றத்திற்கு பல முறைகள் பயன்படுத்தப்படுகின்றன. அவற்றில் சில:

(i) டிரான்ஸ்போசானை நுழைத்து திடீர் மாற்றத்தைத் தூண்டல்
இம்முறையில் டிரான்ஸ்போசான் அல்லது அக்ரோபாக்டீரியத்தின் T-DNA, வெவ்வேறு இடங்களில் நுழைக்கப்பட்டு பின் உருவாகும் திடீர் மாற்றமடைந்த உயிரிகள் ஆராயப்படும். இப்போது திடீர் மாற்றமடைந்த உயிரியின் DNA வரிசைகளும், திடீர் மாற்றமடையாத உயிரியின் DNA வரிசைகளும் ஒப்பிடப்பட்டு இழந்த பணிகள்

கண்டறியப்படுகின்றன. பல தாவரங்களில் இம்முறை பயன்படுத்தப் படுகிறது.

(ii) ஜீன் அமைதியாதல்

இரட்டை இழை RNAவைப் பயன்படுத்தி குறுக்கிட வைத்து (RNAi) ஜீனை அமைதியாக்கி ஜீன் பணிகளை அறியலாம்.

(iii) டில்லிங் (TILLING – Targeted Induced Local Lesions in Genomes)

இம்முறையில் வேகமான நியூட்ரான் மோதல் மூலம் ஜீன் நீக்கப்பட்டு அதனால் உருவான பணி இழப்பை அறியலாம்.

இதைத்தவிர ஜீன்பொறி, தூண்டு பொறி, நாக்அவுட் சுண்டெலி போன்ற முறைகளும் பயன்படுத்தப்படுகின்றன.

புரோட்டியோமிக்ஸ்

ஒரு ஜீனோமால் குறிக்கப்படும் மொத்த புரதங்களைக் குறிக்க வாஸிங்கர் 1955-ல் **"புரோட்டியோம்"** என்ற சொல்லைப் பயன்படுத்த அதிலிருந்து "புரோட்டியோமிக்ஸ்" என்ற பதம் தோன்றியது. புரோட்டியோமிக்ஸ் என்பது பெரிய அளவில் புரதங்களைப் பற்றி படிப்பது ஆகும். எல்லா உயிரினங்களிலும் பெரும்பாலான ஜீன்கள் (rRNA மற்றும் tRNAவை உற்பத்தி செய்யும் ஜீன்கள் தவிர) புரதங்களாக வெளிப்படுகின்றன. அவை ஒரு புரதத்தோற்ற அமைப்பிற்கு காரணமாக அமையலாம், அல்லது அமையாமலும் இருக்கலாம்.ஆகவே ஒரே செல்லிலுள்ள அனைத்துப் புரதங்களைப்பற்றி அறிந்து கொள்வது ஒரு உயிரியின் அனைத்து ஜீன்களின் பணிகளை அறிய உதவிகரமாய் இருக்கும். தற்காலத்தில் உருவாகியுள்ள பல நவீன முறைகளினால், லட்சக்கணக்கான புரதங்களை ஒரே சமயம் படிக்க முடியும். இதனால் பின்னோக்கிய மரபியலும் சாத்தியமானது. அதாவது புரதங்களை ஆராய்வதன் மூலம் அதற்குக் காரணமான ஜீனின் பணியைக் கண்டறியலாம், அந்த ஜீன் கட்டுப்படுத்தும் பண்பையும் கண்டறியலாம்.

புரோடியோமிக்ஸ் ஆய்வின் முக்கியத்தவம்

ஜீனோமிக்ஸ் ஆய்வின் மூலம் ஜீனின் வரிசைகளைக் கண்டறிந்து வைத்திருப்பது மட்டும் பயனற்றது. அதைப் பயன்படுத்தி அது உருவாக்கும் ஜீன் பொருட்களை கண்டறிவது முக்கியம். ஆகவே ஜீனோமிக்ஸும், புரோட்டியோமிக்ஸும் ஒன்றை ஒன்று பூர்த்தி செய்யும் ஆய்வுப் பகுதிகளாகும். முழு ஜீனோம் வரிசைகளிலிருந்து, துவக்க மற்றும் இறுதி கோடான்கள் கொண்ட ORF கொண்டு ஜீன்களைக் கண்டறியலாம். இருப்பினும் இது எப்போதுமே பணியாற்றும் ஜீனைக் குறிக்க வேண்டிய அவசியமில்லை. ஆகவே புரோட்டியோம் ஆய்வுகள் மூலம் ஜீன் உருவாக்கும் பொருட்களை அறிவது அவசியம். அது

ஜீனோமிற்கு சரியான விளக்க உரையாக அமையும். மேலும் மொழி பெயர்த்தலுக்குப் பிந்தைய புரத மாறுபாடுகளைப் புரோட்டியோமிக்ஸ் முறைகள் மூலமே ஆராய முடியும்.

புரோட்டியோம் ஆய்வுக்கான முறைகள்

1990-களில் மாஸ் ஸ்பெக்ட்ரோமெட்ரி முறை புரத ஆய்வுக்கான ஒரு திறனுள்ள முறையாக பரிணமித்தது. பெரிய அளவில் புரதங்களின் முப்பரிமாண அமைப்பை ஆராயும் முறை 'அமைப்பு ஜீனோமிக்ஸ்' (Structural Genomics) எனப்படுகிறது.

புரதங்களைப் பிரித்து அடையாளம் காணும் முறைகள்

ஒரு செல்லிலுள்ள புரதங்களை முதலில் பிரித்து பின் அடையாளம் கண்டுபிடித்து அதன் பணிகள் கண்டறியப்படுகின்றன. இதற்கு பல முறைகள் உள்ளன.

1. **2 டி - பாலிஅக்ரிலமைட் ஜெல் எலக்ட்ரோபோரசிஸ் (2D-PAGE)**: துவக்கத்தில் பயன்படுத்தப்பட்ட இரட்டை பரிமாண பாலி அக்ரலமைட் ஜெல் எலக்ட்ரோபோரசிஸ் மூலம் உயிரியல் மாதிரிகளில் உள்ள 10,00,000 புரதங்களில் 10,000 புரதங்களே ஆராயப்பட்டது. ஆகவே பெருமளவில் காணப்படும் புரதங்களே அடையாளம் காணப்படுகிறது.
2. **மாஸ் ஸ்பெக்ட்ரோமெட்ரி**: ஜெல்லால் பிரிக்கப்பட்ட புரதங்களை மேலும் ஆராய இது உதவும். ஏராளமான புரதங்கள் பெப்டைடுகளாக மாற்றப்பட்டு இம்முறை மூலம் ஆராயப்படுகின்றன.
3. **ஒப்பீட்டு 2டி- ஜெல் முறை**: இருவித ஜெல் முறைகளை ஒப்பிட்டு அறியும் முறை இது. உதாரணமாக சாதாரண மற்றும் புற்றுநோய் திசுக்களிலுள்ள புரதங்களை ஒப்பிடுவதன் மூலம் ஒரு உத்தேசமான சிறுநீரக குறியீடான (urinary marker) ஸோரியாஸின் (psoriasin) கண்டுபிடிக்கப்பட்டது. இது சிறுநீர்ப்பை புற்றுநோய் உள்ளவர்களில் நோயை அடையாளம் கண்டறிய உதவுகிறது.
4. **புரத சிப்ஸ் முறை**: சில ஆண்டிபாடிகளை (புரதம்) கண்ணாடி தட்டில் நிலை நிறுத்தி அதனுடன் நாம் கண்டறிய வேண்டிய புரத மாதிரிகளை வினை செய்ய வைத்து அப்புரதங்களை அடையாளம் காணும் முறை. இதை பெரிய அளவு எலிஸா (ELISA) எனலாம்.

புரதங்களின் மொழிபெயர்ப்புக்கு பிந்தைய மாறுபாடுகளை ஆராய்தல்

மொழிபெயர்த்தலுக்குப் பின் புரதங்கள் பாஸ்போரிலேஷன், கிளைகோஸலேஷன், சல்பேஷன் போன்றவற்றில் ஈடுபடுகிறது. இவை புரதப் பணிகட்கு மிகவும் இன்றியமையாதவை. இம்மாறுபாடுகளை ஜீனோம் வரிசைகள் அல்லது cDNA வரிசைகள் மூலம் கண்டறிய இயலாது. இதற்காக, தெரியாத மூலக்கூறு எடை கொண்ட அனைத்து பெப்டைடுகளையும் மேலும் ஆராய வேண்டும். இது எளிதல்ல

என்றாலும் தொடர்ந்து ஆய்வுகள் மேற்கொள்ளப்பட்டு வருகின்றன. உதாரணமாக பாஸ்போரிலேஷன் நிகழ்வை கீழ்கண்டவற்றின் மூலம் படிக்கலாம்.

(i) மாறுபாடடையாத பாஸ்போபெப்டைடுகளை விட மாறுபாடடைந்த பாஸ்போபெப்டைடுகள் 80Da அதிக எடை கொண்டிருக்கும்.

(ii) பாஸ்பட்டேஸால் தாக்கப்படும்போது ஒரு பாஸ்போபெப்டைட் ஒரு பாஸ்பேட் தொகுதியை வெளியேற்றும்.

புரத-புரத இடைச் செயல்கள்

புரத-புரத இடைச்செயல் ஆய்வுகளும் புரோட்டியோமிக்ஸின் ஒரு அங்கம். இதை மருத்துகள் கண்டுபிடிப்பிற்காக உயிரிய தொழில்நுட்பத்துறை பயன்படுத்திக் கொண்டது. புரத-புரத இடைச்செயல்களை ஆராய கீழ்க்கண்ட முறைகள் பயன்படுகின்றன.

1. **புரத கூட்டுகளை சுத்தப்படுத்துதல்:** ஒரு முழு பல-புரத கூட்டின் புரத-புரத இடைச்செயல்களைள், உறவு சார்ந்த முறை (affinity -based method) மூலம் ஆராயலாம்.

2. **பேஜில் வெளிப்படல்:** இம்முறையில் ஒரு கலப்பின புரதத்தைத் (பேஜின் உறை புரதம், குளோன் செய்யப்பட்ட ஜீன் உற்பத்தி செய்யும் புரதம் ஆகியவை இணைந்தது) தரும் ஒரு உயிர்க்கடத்தி (M13) உருவாக்கப்படுகிறது. இதன் மூலம் பேஜின் உறையில் அயல் புரதம் வெளிப்படுகிறது. இப்போது பேஜைத் தாக்கும் மற்ற புரதங்களுடன் இந்த பரதம் இடைச்செயல்களில் ஈடுபடுகிறது. இம்முறை மூலம் ஒரு 'பேஜ் வெளிப்படல் நூலகம்' உருவாக்கப்பட்டு இந்த பேஜ்களை பயன்படுத்தி புரதங்கள் அடையாளம் காணப்படுகின்றன.

ஈஸ்ட் புரதங்கள்

ஈஸ்டுகளைப் பயன்படுத்தி இரு குறிப்பிட்ட புரதங்களின் இடைச் செயல்கள் ஆரயாப்படுகின்றன. 1996-ல் ஈஸ்டின் முழு ஜீனோம் ஆராயப்பட்டு, 6200 ஜீன்கள் இருப்பதாய் அறியப்பட்டது. 2001-ல் இந்த ஜீன்கள் உருவாக்கும் 5800 புரதங்களின் பணிகள் கண்டறியப்பட்டது. ஈஸ்ட் ஒரு முக்கிய யூகேரியோட் ஆதலால், அதில் நடக்கும் ஆய்வுகள் மனித ஜீன்களின் பணிகளைக் கண்டறியவும் உதவும் எனக் கருதப்படுகிறது.

19. மூலக்கூறு மரபியலில் சட்டம் மற்றும் ஒழுக்கவியல் நடைமுறைகள்

(Legal and Ethical Issues in Molecular Genetics)

யூஜெனிக்ஸ், மரபியல் சோதனை மற்றும் வடிகட்டல்

(Eugenics, Genetic Testing and Screening)



பிரான்சிஸ் கால்டன் (Francis Galton) என்ற ஆங்கிலேய அறிவியலாளர் 1885ஆம் ஆண்டு, தேர்வுசெய்யப்பட்ட இனப்பெருக்கத்தின் மூலம் மனித இனத்தின் எதிர்கால பண்புகளை முன்னேற்றும் (செம்மையாக்கும்) அறிவியலுக்கு யூஜெனிக்ஸ் என்று பெயரிட்டார்.

யூதெனிக்ஸ்: ஏற்கனவே உள்ள மனிதர்களுக்கு நல்ல உணவூட்டம், மாசுபாடற்ற சூழ்நிலை, மேம்பட்ட கல்வி மற்றும் போதிய மருத்துவ வசதிகள் தந்து முன்னேற்றும் முறைக்கு யூதெனிக்ஸ் என்று பெயர்.

யூஜெனிக்ஸ்: இம்முறைப்படி தற்போது வாழ்ந்து வரும் மனிதர்களின் இனப்பிளாசத்தை சீர்திருத்தி, வருங்கால சந்ததிகளை மேம்பாடு அடையச் செய்யலாம். பரம்பரை வசதிகளை பயன்படுத்தி மனிதனின் சிறந்த வகை இனப்பிளாசத்தை தக்க வைத்து, குறைபாடுடைய இனப்பிளாசத்தை மனித சமுதாயத்திலிருந்து நீக்கும் முறைதான் யூஜெனிக்ஸ்.

யூஜெனிக்ஸும், மனித மேம்பாடும்: கீழ்க்கண்ட இரண்டு முறைகளை பயன்படுத்தி யூஜெனிக்ஸ் மூலம் இனத்தை மேம்பாடு அடையச் செய்யலாம்.

1. நேர்முக யூஜெனிக்ஸ் (positive eugenics)
2. மறைமுக யூஜெனிக்ஸ் (negative eugenics)

நேர்முக யூஜெனிக்ஸ்

இதன்படி விரும்பத்தக்க இனப்பிளாசத்தை அதிகரிக்க முயன்று சமுதாயத்தின் மிகச்சிறந்த இனப்பிளாசத்தை தேர்ந்தெடுக்கலாம். கிழ்க்கண்ட முறைகள் மூலம் விரும்பத்தகு பண்புகளின் சதவிகித்தை அதிகரிக்கலாம்.

1. விரும்பத்தகு பண்புள்ளவர்களுக்கு விரைவில் திருமணம் செய்தல்
பொதுவாக சமுதாயத்தில் நல்ல நிலையில் உள்ளவர்கள் அவர்களது எதிர்காலத்தைப் பற்றி சிறந்த குறிக்கோள் கொண்டவர்களாக இருப்பார்கள். அந்த குறிக்கோளை அடைய தங்களது இளமைபருவத்தின் பெரும்பகுதியை செலவிட்டு 30-35 வயது வரும்போதுதான் திருமணம் செய்து கொள்ள முடிகிறது. வயது அதிகரிக்க அதிகரிக்க அவர்களின் இனப்பிளாசத்தின் வீரியம்

குறையும். அவர்கள் மேல் அதிகமாக வரி விதித்து தாமதமின்றி திருமணம் செய்ய வழி வகுக்கலாம். அதே சமயம் சிறந்த பாரம்பரியப் பண்புகளைக் கொண்ட இளையவர்களை விரைவில் திருமணம் செய்து கொள்ள ஊக்கப்படுத்தலாம்.

2.தகுதி வாய்ந்தவர்களை ஆதரித்தல்

சிறந்த இனப்பிளாசம் கொண்ட, வயதில் இளைய ஆண், பெண்கள், குறைந்த எண்ணிக்கையில் குழந்தை பெற்று வாழ்க்கையை நன்கு திட்டமிட்டு நடத்துகின்றனர். அதனால் குழந்தைகளுக்கு மருத்துவ சிகிச்சை அளித்தல் போன்ற கஷ்டங்களை தவிர்க்கலாம் என்று கருதுகிறார்கள். ஆகவே சிறந்த யூஜெனிக் மதிப்புள்ள ஆண், பெண்களை அதிக எண்ணிக்கையில் குழந்தை பெற்றுக்கொள்ள ஊக்கமளிக்கலாம். அதுமட்டுமின்றி அவர்களின் விந்துக்கள் மற்றும் முட்டைகளை எதிர்கால உபயோகத்துக்காக உறைநிலையில் சேமித்து வைக்கலாம். இதற்காக விந்து மற்றும் முட்டை வங்கிகளை ஏற்படுத்தி, அவர்களின் இனச்செல்களை பாதுகாத்து வைத்துக் கொள்ளலாம்.

3.கல்வி

சமுதாயத்தின் யூஜெனிக்ஸ் தொடர்பான சீர்திருத்தங்களை ஏற்படுத்த, மக்களுக்கு மனித உயிரியலின் அடிப்படை கொள்கைகள், மனித மரபியல், யூஜெனிக்ஸ் மற்றும் செக்ஸ் போன்றவை பற்றிய கல்வி அறிவு அளிக்கப்பட வேண்டும்.

4.சிறந்த இனப்பிளாசம் வீணாவதைத் தவிர்த்தல்

வாழ்க்கைத் துணைவர், துணைவிகளை புத்திசாலித்தனமாகத் தேர்ந்தெடுக்க வேண்டும். கன்னியாஸ்திரிகள் மற்றும் பாதிரியார்கள் திருமணம் செய்வதை தடுக்கும் சமுதாய தடைகளை அகற்ற வேண்டும். இதன் மூலம் மிகச் சிறந்த இனப்பிளாசம் பயன்படாமல் போவதை தவிர்க்கலாம். போர்களைத் தவிர்க்க வேண்டும். ஏனெனில், போரினால் சமுதாயத்தின் மிகச்சிறந்த இனப்பிளாசம் பயனற்றுப் போகிறது.

5.மரபியல் ஆலோசனை

இதன்மூலம் மரபியல் நோய் கொண்ட சந்ததிகள் உருவாகாமல் தவிர்க்கலாம்.

6.சுற்றுப்புற காரணிகளை மேம்படுத்தல்

சிறந்த யூஜெனிக்ஸ் கொண்ட நபர்களை உருவாக்குவதில் பராம்பரியம் மற்றும் சுற்றுச்சூழலுக்கு ஒன்றோடொன்று தொடர்புள்ள பங்கு உள்ளது. ஆகவே, ஒவ்வொரு மனிதனுக்கும் நல்ல உணவு, உறைவிடம், கல்வி, மருத்துவ வசதி அளித்து, அவர்களுடைய பாரம்பரிய பண்புகளை முன்னேற்றமடையச் செய்யலாம்.

6.மரபியல் ஆய்வுகளை அதிகரித்தல்

செல்மரபியல் சம்பந்தமான ஆய்வுகளை அதிகப்படுத்தி ஜீன்களுடன் தொடர்புள்ள, மனிதனுக்கு வரும் மரபு நோய்கள் மற்றும் வளர்சிதை மாற்றக் கோளாறுகளை பற்றி சமுதாயத்துக்கு எடுத்துரைக்கலாம்.

மறைமுக யூஜெனிக்ஸ்

கீழ்க்கண்ட முறைகளைப் பின்பற்றி சமுதாயத்திலுள்ள குறைபாடு கொண்ட இனப்பிளாசத்தை அகற்றலாம்.

1. பால் குரோமோசோம்களுடன் தொடர்புள்ள அந்திக்குருடு, ஹீமோபிலியா, வண்ணக்குருடு போன்ற நோய்கள் உள்ளவர்களை சமுதாயத்திலிருந்து தனிமைப்படுத்தி வைக்கலாம்.
2. குடும்பக் கட்டுப்பாடு (டியூபெக்டமி மற்றும் வாசக்டெமி) மூலம் இனப்பிளாச குறைபாடுடைய நபர்களை இனப்பெருக்கம் செய்யவிடாமல் தடுக்கலாம்.
3. பிற நாடுகளிலிருந்து விரும்பத்தகாத ஜீன்களைக் கொண்ட நபர்கள் ஒரு நல்ல சமுதாயத்தில் நுழைவதால், அச்சமுதாயத்தில் இனப்பிளாசம் பாதிப்படைகிறது. ஆகவே, விரும்பத்தகாத பாரம்பரிய பண்புகள் கொண்டவர்களை ஒரு நாட்டிலிருந்து மற்றொரு நாட்டிற்கு குடிபுகுவதை அனுமதிக்காத விதிகள் இயற்றப்பட வேண்டும்.
4. சிறந்த மரபியல் பண்புகளைக் கொண்டவர்களுக்கிடையே திருமணம் நடைபெறுவதற்கு ஆதரவு தர வேண்டும். மனித சமுதாயத்தில் பணத்திற்கு அதிக முக்கியத்துவம் கொடுத்து அதிக பணம் படைத்த ஆனால் மரபியல் குறைபாடு கொணடவர்களுடன் திருமணம் செய்து கொள்கிறார்கள். இது தவிர்க்கப்பட வேண்டும்.

தற்போது மனித மரபியல் ஆய்வாளர்கள் மனித இனத்தை மேம்படுத்த **யூபினிக்ஸ்** மற்றும் **மரபுப்பொறியியல்** என்ற இரு நல்ல முறைகளை வகுத்துள்ளனர்.

யூபினிக்ஸ் (Euphenics)

மனிதனின் மரபுவழி நோய்களுக்கு சிகிச்சை அளிப்பதற்கு யூபினிக்ஸ் என்று பெயர். மனிதனில் அநேக பராம்பரிய மரபுவழி, பிறவி நோய்கள் காணப்படுகிறது. (உ.ம்.) பினைல் கீட்டோநியூரியா. இது ஒரு ஆட்டோசோம் ஒடுங்கு ஜீனினால் ஏற்படுகிறது. இந்நோயுடைய குழந்தைகளுக்கு பினைல்அலனைன் என்ற அமினோ அமிலத்தை வளர்சிதை மாற்றம் செய்ய முடியாது. இதன் விளைவாக அக்குழந்தைகளுக்கு மனவளர்ச்சி குன்றி விடும். அக்குழந்தைகளின் சிறுநீரை ஃபெர்ரிக் குளோரைடுடன் சேர்த்து சோதனை செய்யும் போது சிறுநீரானது பச்சை நிறமாக மாறும். இவ்வாறு நோயை கண்டறிந்து அவர்களின் உணவில் பினைல்அலனைன் இல்லாதவாறு பார்த்துக்

கொண்டால் அக்குழந்தைகளின் நோய்த் தாக்கத்தை குறைக்கலாம். வளர்ச்சியும் நன்றாக இருக்கும்.

எதிர்காலத்தில் கீழ்க்கண்ட யூபினிக்ஸ் நடவடிக்கைகளினால் மனிதனின் உயிரை அச்சுறுத்தும் மரபு நோய்களைப் போக்கலாம்.

1. நோய் தீர்க்கும் தகுந்த நொதியை அளித்து, அதன்மூலம் தேவையான உயிர்வேதியல் வினைகளை செல்களில் ஏற்படுத்தி நோய்களை குணப்படுத்தலாம்.
2. பீட்டா சங்கிலி ஜீன் அமைவிடத்தில் திடீர்மாற்றம் ஏற்படுவதால் ஹீமோகுளோபின் உற்பத்தி மிகவும் குறைந்து இரத்தசோகை நோய் ஏற்படும் (உ.ம்.) கூலீஸ் மற்றும் லீபோர் அனிமியா. பீட்டா ஜீன் செயலை ஒழுங்குபடுத்தும் காரணிகளை கண்டறிந்து பீட்டா சங்கிலி உற்பத்தியினை அதிகரிக்கச் செய்வதற்கான ஆராய்ச்சி நடைபெற்றுக் கொண்டிருக்கிறது. இந்த ஆய்வில் வெற்றி பெற்றால் தலாசீமியா மற்றும் அரிவாள் செல் அனீமியா போன்ற நோய்களை குணப்படுத்த முடியும்.
3. பாரம்பரிய நோயுள்ள குடும்பத்தில் கர்ப்பகாலத்தின் ஆரம்ப நிலையிலேயே அம்னியோசென்டிசிஸ் (amniocentesis) என்ற நுட்பம் மூலம் வளர்கருவின் செல்களை எடுத்து உயிர்வேதியல் மற்றும் செல்லியல் நுட்பங்கள் மூலம் நோயைக் கண்டறிந்து, அசாதாரண வளர்கருவை, கருச்சிதைவு செய்துவிடலாம்.
4. புற்றுநோய் மற்றும் இதய நோய்களுக்கு நோய் தடைகாப்பு மரபியல் ஆய்வின் மூலம் அந்த நோய்கான எதிர்ப்பு சக்தியை உருவாக்க முடியும். இதயநோய் ஒரு ஆட்டோசோம் ஓங்கு பண்பாக சந்ததிகளுக்கு கடத்தப்படுகிறது. இதனால் அக்குடும்பத்தாருக்கு மரபியல் விழிப்புணர்வு ஏற்படுத்தி, அவர்களது உணவுப்பழக்கம் மற்றும் சில பழக்கங்களை மாற்றிக் கொள்ளச் செய்யலாம். உதாரணமாக புகைபிடிக்கும் பழக்கம் மற்றும் அதிக அளவு கொழுப்பு சக்தி கொண்ட உணவைத் தவிர்க்கலாம்.

மரபுப் பொறியியல்

மரபுப்பொறியியல் மூலம் ஒரு உயிரியின் குறைபாடுடைய ஜீனை செயற்கையாக தயாரித்த நல்ல ஜீன் கொண்டு மாற்றியமைக்கலாம்.

செயற்கை முறையில் DNA உற்பத்தி

கார்ன்பர்க் (Kornberg) 1961ல் செயற்கை முறையில் DNA மூலக்கூறுகளை உருவாக்கினார். சோதனைக்குழாயில் செயற்கை DNA உற்பத்தி செய்யும்போது செயற்கை ஜீன்களை உற்பத்தி செய்து செல்களில் புகுத்தி மாற்றம் ஏற்படுத்தலாம். உதாரணமாக காலக்டோசீமியா நோய்க்கான திடீர்மாற்றம் கண்டறியப்பட்டால் பாலில் உள்ள காலக்டோசை வளர்சிதை மாற்றமடையச் செய்யும் நொதிக்கு குறியீடு தரும் ஜீனை செயற்கை முறையில் உற்பத்தி செய்து,

நோயாளியின் செல்களில் புகுத்தி அந்த நொதியை செல்களில் உற்பத்தி செய்ய முடியும். இதே முறை மூலம் பல பாரம்பரிய மரபு நோய்களைக் குணப்படுத்தலாம். மனித செல்லுக்குள் கொண்டுசெல்ல வைரஸ்கள் உருவாக்கப்படலாம்.

இவ்வாறாக யூஜெனிக்ஸ், யூபினிக்ஸ் மற்றும் மரபுப் பொறியியலைப் பயன்படுத்தி மனித இனத்தை மேம்பாடடையச் செய்து, எதிர்காலத்தில் பாரம்பரிய மரபு நோய்கள் இல்லாத சந்ததிகளை உருவாக்கி இயற்கையை வெல்ல முடியும்.

மரபியலில் அறிவு சார்ந்த சொத்துரிமை மற்றும் காப்புரிமை (Intellectual Property Rights (IPR) and Patenting in Genetics)

அறிவைப் பயன்படுத்தி கண்டுபிடிக்கும் கருத்து, திட்ட முன்மாதிரி செயல்முறை போன்றவையே அறிவு சார்ந்த சொத்துரிமை. அவை பயனுள்ள பொருளாக மாற்றக்கூடியவை. இதனை மற்றவர்களாலும் பயன்படுத்த முடிவதால் முதன்முதலில் கண்டுபிடித்தவர்களுக்கு அதனால் கிடைக்கும் லாபம் குறைகிறது. அறிவு சார்ந்த சொத்துரிமை (IPR) மூலம் இதனை தவிர்க்கலாம். ஒரு நபர் தன்னுடைய அறிவு சார்ந்த சொத்தின் மூலம் பயனடையும் உரிமை பெற்று, மற்றவர்களுக்கு அந்த உரிமை கிடைக்காமல் செய்வதற்கு அறிவு சார்ந்த சொத்துரிமை என்று பெயர்.

IPR ஐ கீழ்க்கண்ட விதங்களில் பாதுகாக்கலாம்.

1. வணிக இரகசியம் (Trade secret)
2. காப்புரிமை (Patent)
3. பிரசுர உரிமை (Copy right)
4. தாவர வளர்ப்புரிமை (PBR) (Plant Breeder's Rights)

வணிக இரகசியம்: ஒரு தனி நபரோ அல்லது ஒரு நிறுவனமோ , தங்களது சொந்த வணிகத்தை அபிவிருத்தி செய்வதற்காக தங்களது அறிவு சார்ந்த சொத்தை வெளியில் சொல்லாமல் இரகசியமாக பாதுகாத்து வைத்திருப்பதற்கு வணிக இரகசியம் என்று பெயர்.உ.ம். கோகோ கோலா சூத்திரம்

எல்லையற்ற காலஅளவு, சட்டத் தேவையின்மை, விண்ணப்பம் செய்ய வேண்டிய அவசியமின்மை, போட்டியிட்டு IPRஐ ஏற்கச் செய்தல் போன்றவை இதன் சிறப்பு அம்சங்களாகும்.

வணிக இரகசியத்தை தொடந்து காப்பாற்றி வருவதற்கு அதிகமாக செலவாகும். இதே இரகசியத்தை மற்றொருவர் தன்னிச்சையாக கண்டுபிடிக்க வாய்ப்புண்டு. கண்டுபிடிப்பை வெளியிடாமல் வைத்திருப்பதால் விஞ்ஞான/தொழில்நுட்ப முன்னேற்றங்கள் தாமதமாகும். மேற்கூறியவை வணிக இரகசியத்தின் குறைபாடுகளாகும்.

காப்புரிமை: காப்புரிமை அரசாங்கத்தால் சான்றிதழ் வடிவில் கொடுக்கப்படுகிறது. இதனால் ஒரு குறிப்பிட்ட காலத்திற்கு மற்றவர்களால் இந்த கண்டுபிடிப்பை உபயோகிக்கவோ, உற்பத்தி செய்யவோ, விற்கவோ முடியாது. காப்புரிமையானது அது வழங்கப்பட்ட நாட்டில் மட்டும்தான் குறிப்பிட்ட கால அளவிற்கு ஒப்புக் கொள்ளத்தக்கதாக இருக்கும். ஒரு கண்டுபிடிப்பு ஏற்கனவே கண்டுபிடிக்கப்பட்டதன் முன்னேற்ற முறை, ஒரு பொருளின் உற்பத்தி முறை, பயனள்ள நல்ல கருத்து ஆகியவற்றிற்கு காப்புரிமை வழங்கப்படும்.

காப்புரிமை பெறுவதற்கான தகுதிகள்

1. புதுமை : கண்டுபிடிப்பானது ஏற்கனவே தெரிந்ததாக இல்லாமல் புதுமையாக இருக்க வேண்டும்.

2.கண்டுபிடிப்பின் தன்மை: தனித்தன்மை கொண்ட சொந்த கண்டுபிடிப்பாக இருக்க வேண்டும்.

3. தொழிற்சாலையில் பயன்பாடு: கண்டுபிடிப்பு உடனடியாக அல்லது எதிர்காலத்தில் தொழிற்சாலையில் பயனள்ளதாக இருந்து சமுதாயம் / தேசத்திற்கு உபயோகமாக இருக்க வேண்டும்.

4.காப்புரிமை தன்மை: கண்டுபிடிப்பானது நடைமுறையிலுள்ள காப்புரிமை விதிக்கு உட்பட்டதாக இருக்க வேண்டும். காப்புரிமை விதி நாட்டுக்கு நாடு வேறுபடும். இந்திய காப்புரிமைச் சட்டப்படி (1970) மருந்தாக்கப் பொருட்களுக்கு காப்புரிமை கிடையாது. ஆனால் அமெரிக்கா, ஜப்பான் போன்ற நாடுகளில் அதற்கு காப்புரிமை வழங்கப்படுகிறது. மரபு மாற்றமடைந்த நுண்ணுயிரிகள், தாவரங்கள் மற்றும் விலங்குகளுக்கு அமெரிக்காவில் காப்புரிமை உண்டு. ஆனால் அவைகளுக்கு இந்தியாவில் காப்புரிமை கிடையாது. அறுவை சிகிச்சை நுட்பங்கள், சிகிச்சைக்குப் பயன்படும் பொருட்கள்., நோய் கண்டுபிடிப்பு அல்லது தடுப்பு முறை போன்றவைகளுக்கு காப்புரிமை எந்த ஒரு நாட்டிலுமே கிடையாது.

5.வெளிக்கொணர்தல்: கண்டுபிடித்தவர் அவரது கண்டுபிடிப்பை சாதாரண திறனுள்ளவர்கூட புரிந்து கொள்ளும் அளவிற்கு விளக்கமாகக் கூற வேண்டும்.

இந்திய காப்புரிமை சட்டத்தின் படி, எந்த ஒரு காப்புரிமையும் 7 அல்லது 14 ஆண்டுகளுக்குத்தான் ஒப்புக்கொள்ளக் கூடியதாக இருக்கும்.

பிரசுர உரிமை: காப்புரிமை வழங்க முடியாத சில வகை அறிவு சார்ந்த சொத்துகள் பிரசுர உரிமையால் பாதுகாக்கப்படுகின்றன. (உ.ம்.) புத்தகங்கள், ஆடியோ மற்றும் வீடியோ கேசட்டுகள் போன்றவை. பிரசுர உரிமை அந்த எண்ணப்பொருளை பிறர் முற்றிலுமோ, அல்லது பகுதியாகவோ பிரதி உண்டாக்குவதை தடுக்கும். ஆனால் அதை பயன்படுத்துவதை தடுக்காது.

தாவர பெருக்க உரிமை மற்றும் விவசாயிகள் உரிமை: PBR, புதுரகத் தாவரம் உற்பத்தி செய்தவர்களுக்கு அரசாங்கத்தால் தரப்படும் தாவர வளர்ப்பு /பெருக்க உரிமையாகும். இவ்வுரிமை 15-20 ஆண்டுகளுக்கு தரப்படும். ஆகவே மற்றவர்கள் இந்த வகை தாவரத்தை உற்பத்தி செய்யவோ அல்லது அது சம்பந்தமான பொருட்களை விற்பனை செய்யவோ முடியாது. தாவரங்களுக்கு காப்புரிமை அளிக்கும் சட்டம் முதன்முதலாக 1866-ம் ஆண்டு ஜெர்மனியில் இயற்றப்பட்டது.

விவசாயிகளின் சிறப்புரிமை: இதன்படி விவசாயிக்கு அவனுடைய சொந்த உற்பத்தியை விதைக்குப் பயன்படுத்தும் உரிமை உண்டு. ஆனால் பிற விவசாயிகளுடன் அதனை பரிவரித்தனை செய்யக்கூடாது. ஒரு விவசாயி தனது பண்ணையில் பாதுகாப்பு உரிமம் கொண்ட வகை தாவரத்திலிருந்து உற்பத்தி செய்யப்பட்ட பொருளின் ஒரு பகுதியினை சொந்த வயலில் பயிரிட உபயோகித்துக் கெள்ளலாம்.

சர்வதேச அளவில் காப்புரிமை விதிகளின் ஒற்றுமை

1. காப்புரிமை அது வழங்கப்பட்ட நாட்டில்தான் ஒப்புக்கொள்ளத்தக்கதாக இருக்கும்.
2. புதுமையான கண்டுபிடிப்புகளுக்கு மட்டும்தான் காப்புரிமை வழங்கப்படும்.
3. காப்புரிமை பெறுவதற்கு அதிக செலவாகும்.
4. தன்னுடைய கண்டுபிடிப்புக்கு ஒன்றுக்கு மேற்பட்ட நாடுகளில் காப்புரிமை பெற விரும்புபவர்கள் அந்த நாடுகளுக்கு ஒரே நாளில் விண்ணப்பிக்க வேண்டும்.

பாரிஸ் கன்வென்ஷன் ஒப்பந்தம் (Paris Convention Treaty- PCT), உலக அறிவு சார்ந்த சொத்து சங்கம் (World Intellectual Property Organisation -WIPO), ஐரோப்பிய காப்புரிமை கூட்டமைப்பு (European Patent Convention - EPC), வணிகத் தொடர்பு கொண்ட அறிவு சார்ந்த சொத்து உரிமைகள் (Trade Related Intellectual Property Rights-TRIPS): உலக வணிக சங்கம் (World Trade Organisation-WTO), General agreement on Tariffs and Trade-GATT போன்ற அமைப்புகள் சர்வதேச அளவில் காப்புரிமைகளை பாதுகாக்க ஏற்படுத்தப்பட்டுள்ளன.

உயிரி தொழில்நுட்ப கண்டுபிடிப்புகளுக்கான பாதுகாப்பு

செயல்முறைகள், பொருட்கள் இவற்றின் பயன்பாடுகள் காப்புரிமையால் பாதுகாக்கப்படுகிறது. இயற்கையிலிருந்து தனிமைப்படுத்தப்பட்ட பொருட்கள் 'கண்டுபிடிப்பு' என்று ஐரோப்பிய காப்புரிமை அலுவலகம் கருதுவதால், அதற்கு காப்புரிமை கிடையாது. ஆனால் அவற்றை தனிமைப்படுத்தப்படும் முறைக்கு காப்புரிமை உண்டு. ஜீன்களை

மாற்றியமைக்கும் முறைகள்/ நுட்பங்களுக்கு இந்தியா உட்பட கிட்டத்தட்ட அனைத்து நாடுகளிலும் காப்புரிமை வழங்கப்படுகிறது.

ஜீன்கள் மற்றும் DNA தொடர் வரிசைகளுக்கான காப்புரிமை

எல்லா வளர்ந்த நாடுகளிலும் செயற்கை முறையில் உற்பத்தி செய்யப்பட்ட ஜீன்களுக்கு காப்புரிமை வழங்கப்படுகிறது. மீயூட்டன்ட் பாக்டீரியாவிலிருந்து தனிமைப்படுத்தப்பட்ட கிளைபோசேட்டை எதிர்க்கும் சக்தி தரும் aro A ஜீன்தான் முதன் முதலில் காப்புரிமை பெற்றது. தனிமைப்படுத்தப்படும் இயற்கையான ஜீன்களுக்கு பிரிட்டன் மற்றும் இந்தியாவில் காப்புரிமை கிடையாது.

உயிரிகளுக்கு காப்புரிமை

இந்திய காப்புரிமை சட்டம் 1970-ன்படி உயிரிகளுக்கு இந்தியாவில் காப்புரிமை கிடையாது. மரபுப்பொறியியல் மூலம் மாற்றியமைக்கப்படும் நுண்ணுயிரிகளுக்கு அமெரிக்காவில் காப்புரிமை வழங்கப்படுகிறது. சிதறிக்கிடக்கும் எண்ணெயை எடுத்துக் கொண்டு சுற்றுப்புறத்தை தூய்மைப்படுத்தும் குணம் கொண்ட மரபியல் மாற்றம் செய்யப்பட்ட *சூடோமோனாஸ்* இனத்துக்காக, ஏ.எம்.சக்ரபர்தி என்ற விஞ்ஞானிக்கு காப்புரிமை கிடைத்தது. உலக அளவில் உயிர் தொழில்நுட்பவியலுக்கு அநேக காப்புரிமைகள் வழங்கப்பட்டுள்ளன. மறு இணைவு தொழில்நுட்பம், நுண்ணுயிரிகள், தடுப்பூசிகள், பி.சி.ஆர் (PCR), DNA, RNA மற்றும் புரதத்தொடர் வரிசைகள், DNAவைப் பிரித்தெடுத்து கண்டறியும் முறைகள், ஹைபிரிடோமா நுட்பவியல் ,ஸ்டெம் செல் நுட்பவியல், தாவர திசு வளர்ப்பு, மரபியல் மாற்றமடைந்த தாவரங்கள் மற்றும் விலங்குகள், விலங்குகளில் குளோனிங் (உதாரணம் : டாலி) போன்ற பிரிவுகளுககு காப்புரிமை அதிக அளவில் தரப்பட்டுள்ளன.

மறு இணைவு DNA மற்றும் பாதுகாப்பு
(Recombinant DNA and Safety)

உயிர்பாதுகாப்பு (Biosafety)

மறு இணைவு தொழில்நுட்பத்தை பயன்படுத்தி உயிரிகளில் புதுமையான ஜீன்களைப் புகுத்தி அவைகளின் ஜீன்களின் தொகுப்பினை மாற்றி அமைப்பதனால் ஏற்படும் விளைவுகள் மற்றும் ஒழுக்கவியல் (ethics) சம்பந்தமான பிரச்சனைகளை விஞ்ஞானிகள் 1970-ம் ஆண்டின் தொடக்கத்தில் பொதுமக்கள் மற்றும் அரசாங்க அலுவலர்களிடம் எடுத்துரைத்தனர். இதுவரை இல்லாத புதுவகை நுண்ணுயிரிகளை உண்டு பண்ணி போர்காலத்தில் பயன்படுத்தப்பட்டால் தொற்றுநோய் மற்றும் சுற்றுச்சூழல் சீர்கேடு ஏற்பட வாய்ப்புண்டு என்பதையும் சுட்டிக்காட்டினர்.

உயிரியல் போர் (Biological warfare)

சர்வதேச அளவில் நோய் ஏற்படுத்தும் வைரஸ்கள் பாக்டீரியன்கள், பூஞ்சைகள், பூச்சிகள் அல்லது இவைகள் உற்பத்தி செய்யும் நச்சுப்பொருட்களை பயன்படுத்தி மனிதன், விலங்குகள் மற்றும் தாவரங்களுக்கு நோய் அல்லது இறப்பை ஏற்படுத்துவதற்குத்தான் **உயிரியல் போர்** என்று பெயர். பழங்காலத்தில் கிரேக்க மற்றும் ரோம் நாட்டு வீரர்கள் சிதைவடைந்து கொண்டிருக்கும் பிணங்களை பயன்படுத்தி எதிரிகளின் குடிநீரை நச்சுப்படுத்தி நோயினை ஏற்படுத்தினர். ஐரோப்பாவில் 14-ம் நூற்றாண்டில் ப்ளேக் நோயினால் இறந்தவர்களின் உடலை எதிரிகளின் எல்லைப்பகுதியில் உள்ள நகரங்களின் சுவர்களில் போட்டு மக்களை அழித்தனர். ஆங்கிலேயர்கள் வட அமெரிக்க ஆதிவாசிகளுக்கு எதிராக பெரியம்மை வைரசை பயன்படுத்தினர். ஆந்த்ராக்ஸ் பாக்டீரியத்தை ஸ்காட்லாந்தின் அருகிலுள்ள குருயினார்டு தீவில் பயன்படுத்தினார்கள். இரண்டாம் உலகப்போரின் போது ஜப்பான் நாட்டினர் ரஷ்யா, சீனா, ஐரோப்பா மற்றும் அமெரிக்க சிறைக் கைதிகளுக்கு எதிராக விஷக்கிருமிகளைப் பயன்படுத்தினர்.

மஞ்சள் காயச்சல், ரி∴ப்ட் காய்ச்சல், பெரியம்மை, இன்∴புளுயன்சா, என்செபாலிட்டிஸ் போன்ற நோய்களை ஏற்படுத்தும் வைரஸ்களும், காலரா, டைப்பாய்டு, வயிற்றுக்கடுப்பு, டைபஸ் போன்ற நோய்களை ஏற்படுத்தும் பாக்டீரியன்களும் உயிரியல் போருக்கு பயன்படுத்தப்படும் விஷக்கிருமிகளாகும். மறு இணைவு தொழில்நுட்பத்தை பயன்படுத்தி, மிகவும் வீரியம் வாய்ந்த அதிக நச்சுத்தன்மை கொண்ட ஆன்டிபயாட்டிக்குக்கு எதிர்ப்பு சக்தி கொண்ட உயிரிகளை உண்டு பண்ணமுடியும்.

பாதுகாப்பு முயற்சிகள் (safety efforts)

1972-ம் ஆண்டு உயிரி மற்றும் நச்சு ஆயுத உடன்படிக்கை என்ற நிராயுத ஒப்பந்தம் ஏற்படுத்தப்பட்டது. இதன்படி வேதிய மற்றும் உயிரிய ஆயுதங்கள் பயன்படுத்துவது தடைசெய்யப்பட்டது. இந்த உடன்படிக்கை 1986-ம் ஆண்டு புதுப்பிக்கப்பட்டது. 1976-ம் ஆண்டு, அமெரிக்க சுகாதார நிறுவனம் (National Institute of Health-NIH) மறு இணைவு DNA தொழில்நுட்ப ஆராய்ச்சிகளுக்கு விதிமுறைகள் ஏற்படுத்தியது. ஆராய்ச்சியின்போது பொருளாதார வளர்ச்சிக்குத் தேவையான பொருட்களின் உற்பத்தியை மட்டும் கவனத்தில் கொள்ளாது, மனித ஆரோக்கியம் மற்றும் சுற்றுப்புற தூய்மைக்கும் முக்கியத்துவம் அளிக்க வேண்டும். என்பதை வலியுறுத்தியது. மறு இணைவு DNA சோதனைகள் நடத்த ஆய்வுக்கூட கோட்பாட்டு நயங்களின் அளவை (containment level) வரையறுத்துக் கூறியது.

கோட்பாட்டு நயங்கள் (containments)
ஆய்வின் செய்முறை, ஆய்வுக்கூட கருவிகள் மற்றும் அவைகளை ஆய்வுக்கூடத்தில் பொருத்தியுள்ள முறை மற்றும் ஆராய்ச்சியின்போது எதிர்பாராதவிதமாக உயிரிகள் வெளியேறுவதை தடுக்கும்படியான விருந்தோம்பி உயிர்கடத்தி மண்டல அமைப்பு, வெளியேறிய உயிரிகள் சுற்றுப்புறத்தில் பரவி வாழ்தல், ஆய்வுக்கூட வேலையாட்கள் மற்றும் ஆய்வுக்கூடத்திற்கு வெளியே உள்ள நபர்கள் எதிர்பாராத வகையில் தாக்கப்படுதல் ஆகியவற்றின் தொகுப்பிற்கு கோட்பாட்டு நயங்கள் என்று பெயர்.

இயற்பிய கோட்பாட்டு நயங்கள்
இதில் சிறப்பாக வடிவமைக்கப்பட்ட ஆய்வுக்கூடம், கருவிகள், எதிர்பாராத விதத்தில் நுண்ணுயிரிகள் சோதனையின்போது வெளியேறுதல், ஆய்வுக்கூட தொழிலாளர்கள் தாக்கப்படுதல் ஆகியவை அடங்கும். இயற்பிய கோட்பாட்டு நயங்கள் நான்கு வகைப்படும் அவையாவன.

உயிர்பாதுகாப்பு நிலை I (Biosafety level I):
இதில் பாதுகாப்பான ஆய்வுக்கூட அமைப்பு மற்றும் பாதுகாப்பான கருவிகள் அடங்கும். ஆரோக்கியமான மனிதர்களில் நோய் ஏற்படுத்தாது.

உயிர்பாதுகாப்பு நிலை II (Biosafety level II):
இது மனித நோய்களுடன் தொடர்பு கொண்டுள்ள ஆய்வுக்கூடத்து மிதமான அபாய காரணிகள் சம்மந்தமானது.

உயிர்பாதுகாப்பு நிலை III (Biosafety level III):
இது அவ்விடத்து (indigenous) அல்லது புற (exotic) நுண்ணுயிரிகள் கொண்டு ஆய்வு நடைபெறும் ஆய்வுக் கூடத்துக்குப் பொருந்தும். அவை சுவாசம் மூலம் பரவும் தன்மையன. இதனால் உயிருக்கு ஆபத்து ஏற்படலாம்.

உயிர்பாதுகாப்பு நிலை IV (Biosafety level IV):
அபாயமான வெளி (exotic) நாட்டு காரணிகள் கொண்டு ஆய்வுநடத்தும் ஆய்வுக்கூடத்துக்குப் பொருந்தும். சிகிச்சையோ தடுப்பூசியோ இல்லாத, உயிருக்கு ஆபத்து உண்டாக்கும் நோய் ஏற்படுத்தும்.

உயிரிய கோட்பாட்டு நயங்கள் (Biological Containment)
மரபியல் மாற்றமடைந்த உயிரிகள் எதிர்பாராதவிதமாக ஆய்வுக் கூடத்திலிருந்து வெளியேற்றப்பட்டாலோ அல்லது ஆய்வுக்கூடத்தில் வேலை பார்ப்பவர்கள் மூலம் கடத்தப்பட்டாலோ அவ்வுயிரிகளினால் ஏற்படும் ஆபத்தைக் குறைக்கும் தன்மை கொண்ட மரபு மாற்றங்கள் ஏற்படுத்துவதே இதன் நோக்கமாகும். உயிரிய கோட்பாட்டு நயங்கள் மறு இணைவு DNA உருவாக்க பயன்படுத்தும் உயிர் கடத்தி மற்றும்

விருந்தோம்பியின் அடிப்படையில் இருக்கும். ஆகவே இது 'விருந்தோம்பி-உயிர் கடத்தி' மண்டலம் என்றும் அழைக்கப்படுகிறது. இதன் நோக்கத்தை அமலாக்க ஆக்சோட்ரோபிக் எ.கோலி மியூட்டண்டுகள், Rec A வகை இனங்கள் நகரும் தன்மை அற்ற பிளாஸ்மிடுகள், டிரான்ஸ்போசான் அல்லது ஆன்டிபயாட்டிக் எதிர்ப்புசக்தி அற்ற எ.கோலி வகைகளைப் பயன்படுத்தலாம்.

இங்கிலாந்தில் மறுஇணைவு DNA ஆய்வை கட்டுப்படுத்த அரசாங்க நிறுவனங்கள் உள்ளன. (உம்) GMAG(Genetic Mainpulation Advisory Group). இந்நிறுவனத்திடமிருந்து மறு இணைவு DNA ஆய்வுக்கு ஆராய்ச்சியாளர்கள் முன்கூட்டியே அனுமதி பெற வேண்டும். அதே போல பிரான்சு மற்றும் ஜெர்மனியிலும் இதற்கான நிறுவனங்கள் உள்ளன. மரபியல் மாற்றமடைந்த உயிரிகளை சுற்றுப்புறத்தில் வெளியிடுவது தடை செய்யப்பட்டுள்ளது. இது சம்பந்தமாக இந்தியாவில் 4 நிறுவனங்கள் உள்ளன. அவையாவன:

1. மறுஇணைவு DNA உபதேச சபை (Recombinant DNA Advisory Committee-RDAC): வழிகாட்டும் நெறிமுறைகள் ஏற்படுத்தி அவற்றை அவ்வப்போது புதுப்பிக்கிறது.

2. நிறுவன உயிர்-பாதுகாப்பு சபை (Intellectual Propery Scholars Conference-IPSC): வழிகாட்டு நெறிமுறைகளை அறிவியல் திட்டங்களுக்கு செயல்படுத்துகிறது.

3. ஜீன்கள் கையாளப்படுவதை திறனாய்வு செய்யும் சபை (Review Committee on Genetic Manipulation-RCGM): தனித்தன்மை கொண்ட கோட்பாட்டு நய நிபந்தனைகளை, சோதனைகளுக்கு சிபாரிசு செய்கிறது.

4. மரபுப்பொறியியல் அங்கீகார சபை (Genetic Engineering Approval Committee-GEAC): மரபியல் மாற்றம் கொண்ட உயிரிகளை/ பொருட்களை அதிக அளவு உற்பத்தி செய்தல் மற்றும் சுற்றுப்புறத்தில் வெளியிடல் மற்றும் அவைகளை இறக்குமதி ஏற்றுமதி செய்ய அங்கீகாரம் அளிக்கிறது.

இந்தியாவில் உயரிய பாதுகாப்பு வழிமுறைகள்

இந்தியாவில் சுற்றுப்புறம் மற்றும் வன அமைச்சகம் (MoEF-Ministry of Environment and Forests) டிசம்பர் 1989-ல் நிறுவப்பட்டது. மரபியல் மாற்றமடைந்த உயிரிகளின் உற்பத்தி, இறக்குமதி, உபயோகம்,

ஆராய்ச்சி மற்றும் அவைகளை சுற்றுப்புறத்தில் வெளியிடல் ஆகியவற்றிற்கு விதிமுறைகள் ஏற்படுத்தியது. இது சுற்றுப்புற பாதுகாப்பு சட்டத்தின் (EPA-Environment Protection Act- 1986) அடிப்படையில் ஏற்படுத்தப்பட்டது. இந்திய மறு இணைவு DNA பாதுகாப்பு வழிகாட்டும் நெறிமுறைகள் 1990-ல் தயாரிக்கப்பட்டு 1994-ல் திருத்தி அமைக்கப்பட்டது. இதனை மறு இணைவு DNA ஆலோசனை சபை (RDAC), உயிர் தொழில்நுட்பதுறை (Department of Biotechnology-DBT), டில்லியிடமிருந்து பெற்றுக் கொள்ளலாம். தற்போது உயிர்பாதுகாப்பு நெறிமுறைகளை விவரிக்க அநேக தேசிய மற்றும் சர்வதேச நிறுவனங்கள் உள்ளன.

ஆனாலும் உலகம் முழுக்க அரசாங்கங்களுக்குத் தெரிந்தோ தெரியாமலோ நடக்கும் ஆய்வுகள் மனிதன் கடவுளின் பணியைக் கையில் எடுத்துக் கொள்ள வேகமாக விரைவது போன்றே தோன்றுகிறது. இந்த நேரத்தில் 1500 வருடங்களுக்கு முன்பே வர்ஜில் கூறிய வார்த்தைகளை நினைவில் கொள்ள வெண்டும்.

"நரகத்திற்குச் செல்லும் வழி எளிதானது. நரகத்தின் பெரிய அகன்ற வாயில்கள் இரவும் பகலும் திறந்தே கிடக்கின்றன. அதனுள் நுழையாமல் பின்வாங்குவது.......கடினமானது".

References (பார்வை நூல்கள்)

1Genes VIII, Lewin,B. *Pearson/ Prentice Hall, New Jersey*.2004.

2.Principles of Gene Manipulation, Primrose,S.B., R.M.Twyran , R.W.Old. Blackwell Science, Hong Kong. 2004.

3.Principles of Genetics, Tamarain, R.H. Tata McGraw-Hill, New Delhi 4th Edn.2004.

4.Molecular Cloning-A Lab Manual .Vol.1-3, Sambrook, J ., D.W. Russell. Cold Spring Harbor , New York,3rd Edn. 2001.

4.Molecular Biology of the Gene, Watson, J.D., T.A.Bake., S.P.Bell, A.G.Gann, M.Levine, R.Losick. Pearson/Prentice Hall, New Jersey,3rd Edn.2004.

5.Gene Cloning and DNA Analysis, an Introduction. Snow,T.A. Blackwell Publishing, Hong Kong,4th Edn.2003.

6.Introduction to Genetic Analysis, Griffiths,A.J.F.,S.R.Wessler, R.C.Lewontin, W.M.Gelbart, D.T.Suzuki, J.H.Miller.W.H.Freeman and Company,New York,5th Edn.2005.

7.Microbial Genetics, Freifelder,D.Narosa Publishing House, New Delhi,2001. Genetics, Goodenough,U. Saunders College Publishing.1984.

8.Recombinant DNA, Watson,J.D., M.Gilman, .Witkowski, M.Zoller. Scientific American Books.2nd Edn.2001.

9.Molecular Biotechnology, Primrose,S.B. Panima Publishing Corporation, New Delhi.2nd Edn.2001.

10.Microbial Genetics,Maloy,S.,J.E.Cronan,Jr.D.Freifelder.Jones and Bartlett Publishers, Boston.2nd Edn.1987.

11.Uyiriya Thozhilnutpam,Vijayaraman,K.,P.Manikili,S.Chellammal.Chimeera, Tiruchy,2nd Edn.1998.

12. Enormous number of Internet Resources including Wikipedia.

<u>Figures Courtesy</u>:

Watson,J.D, Primrose,S, Griffiths,A.J.F.,S.R.Wessler, R.C.Lewontin,W.M.Gelbart, D.T.Suzuki,J.H.Miller, Sambrook, J . D.W. Lewin,B, Internet Resources.
DNA finger printing